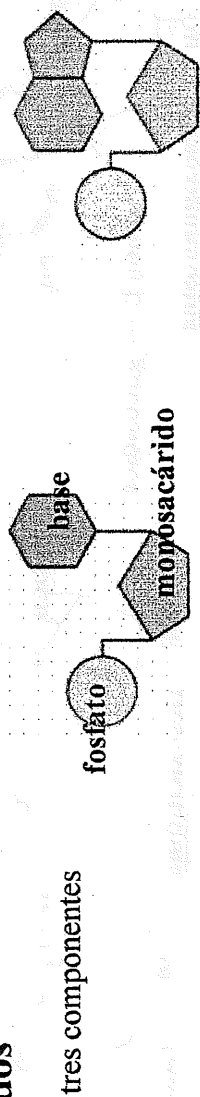


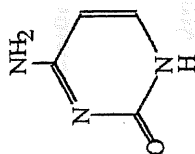
Ácidos Nucleicos

Nucleótidos

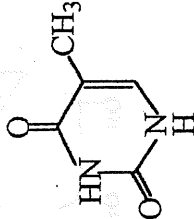


Bases

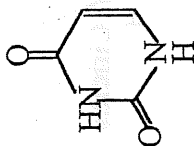
Citosina C



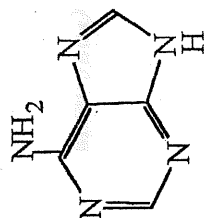
Timina T



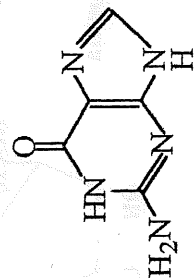
Uracilo U



Adenina A

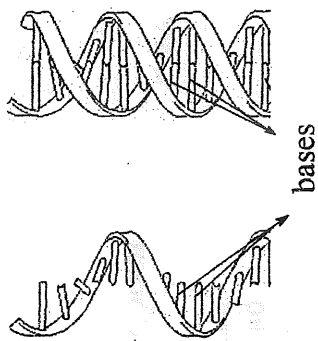


Guanina G

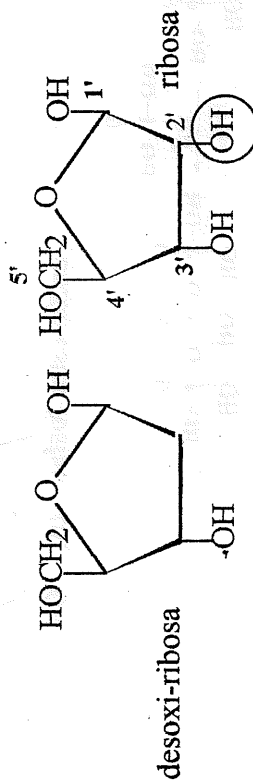


pirimidínicas

purínicas

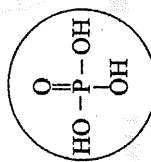


Pentosas



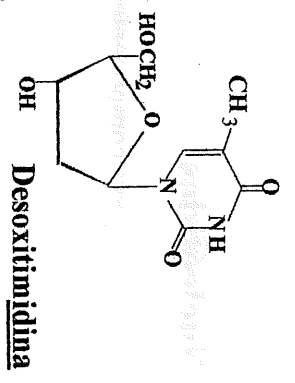
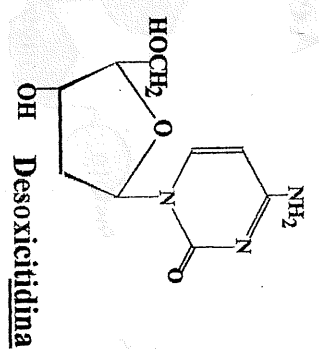
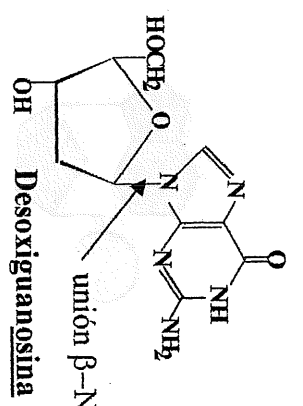
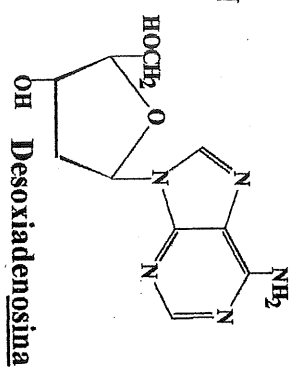
Fosfato

P

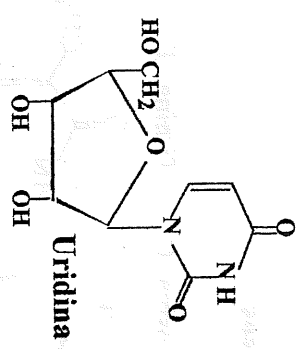
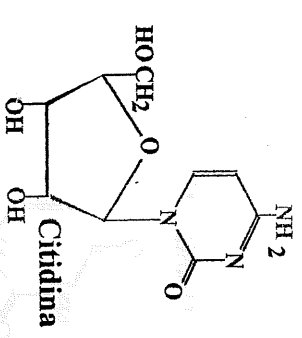
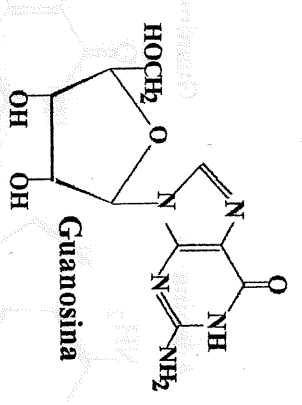
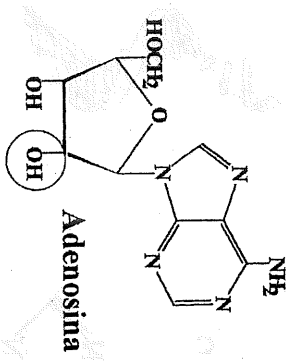


Nucleósidos

ADN

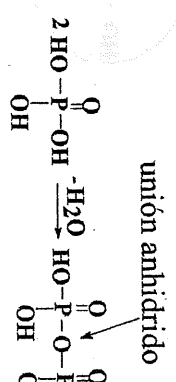
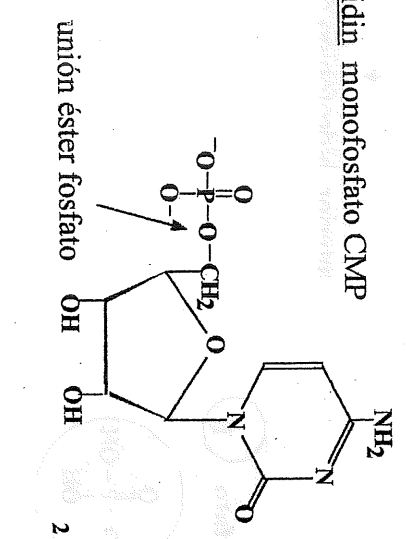


ARN



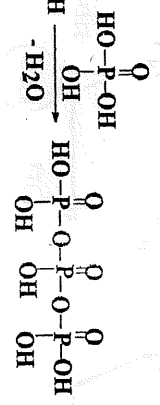
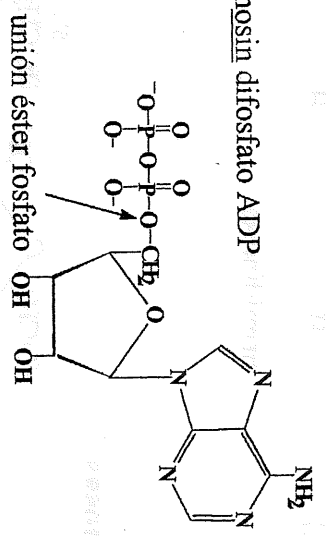
Nucleótido → Nucleósido + fosfato (unión éster fosfato)

citidin monofosfato CMP



ácido pirofosfórico

adenosin difosfato ADP

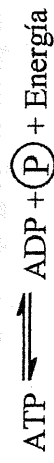
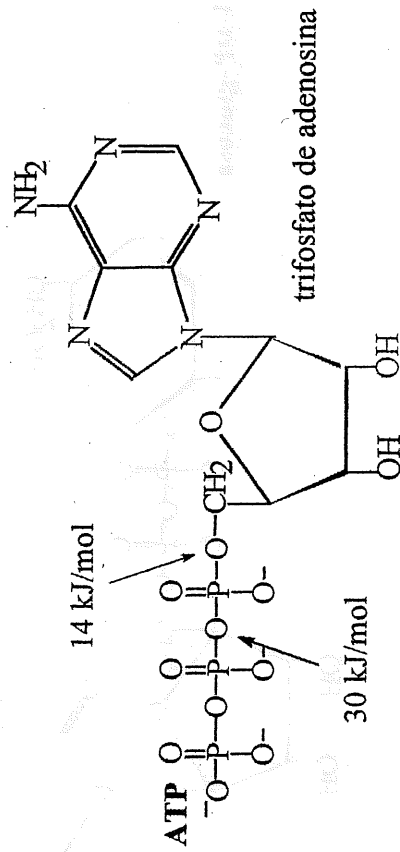


ácido trifosfórico

Funciones de los nucleótidos

Portadores de energía

Los nucleótidos trifosfato son portadores de energía



La cantidad de energía liberada es 7,3 kcal/mol

Mensajeros químicos

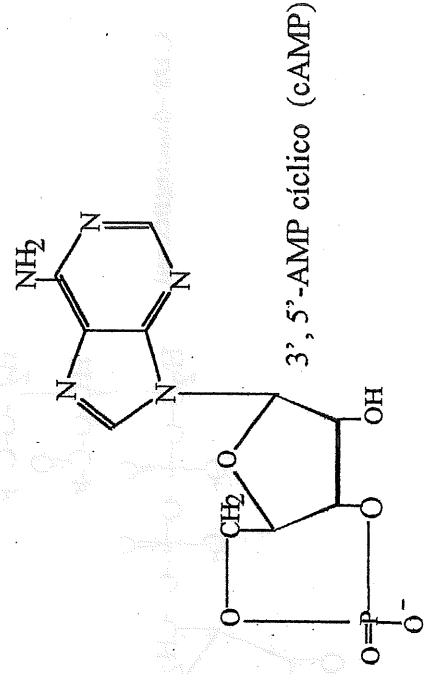
3', 5'-AMP cíclico (cAMP)

3', 5'-GMP cíclico (cGMP)

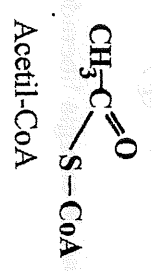
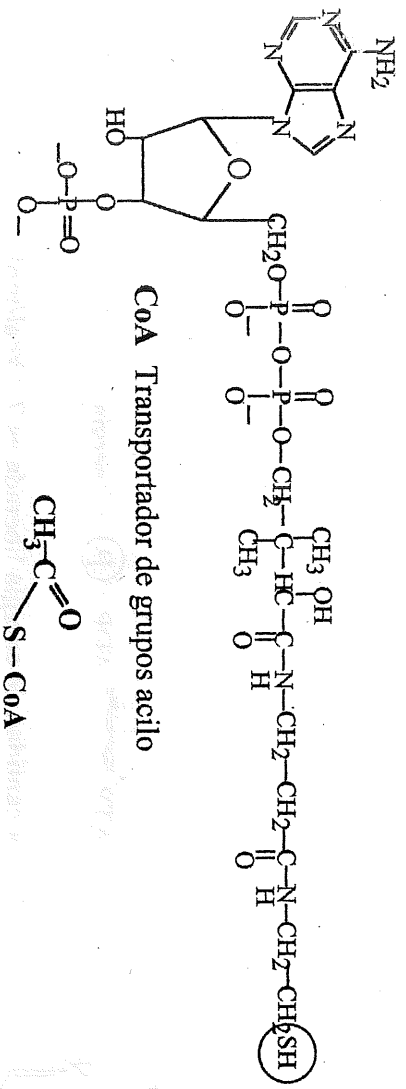
Mensajeros primarios → receptores proteicos (membrana plasmática)

adenilato ciclasa → cAMP intracelular

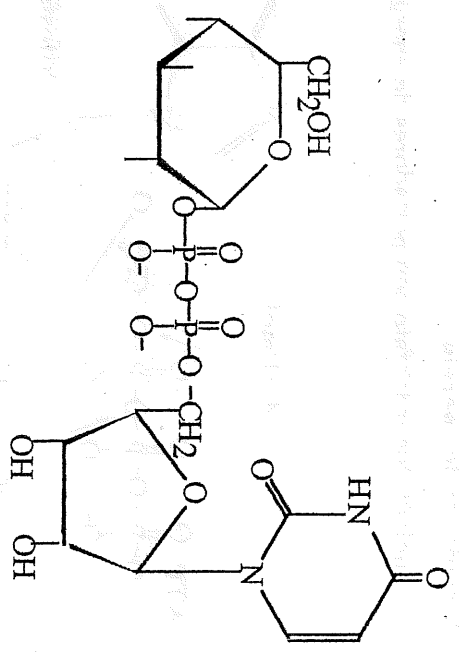
regulación de respuestas metabólicas



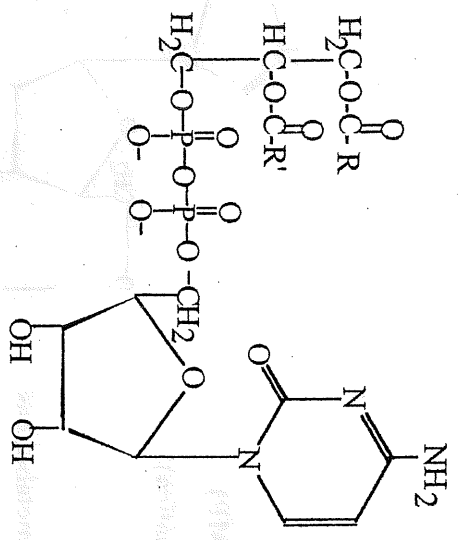
Transportadores de moléculas específicas



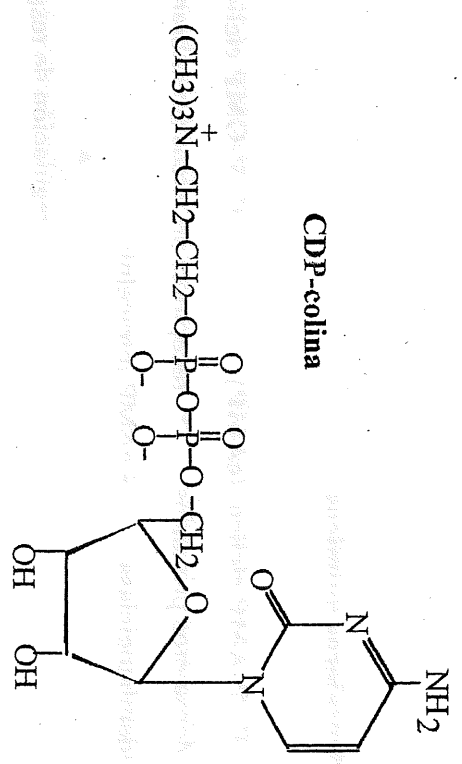
UDP-glucosa



CDP-diacylglicerol

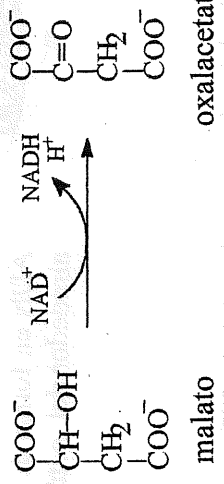
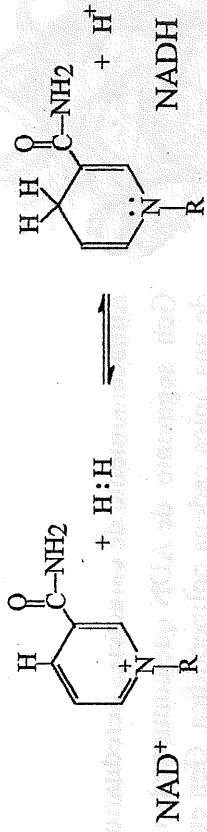
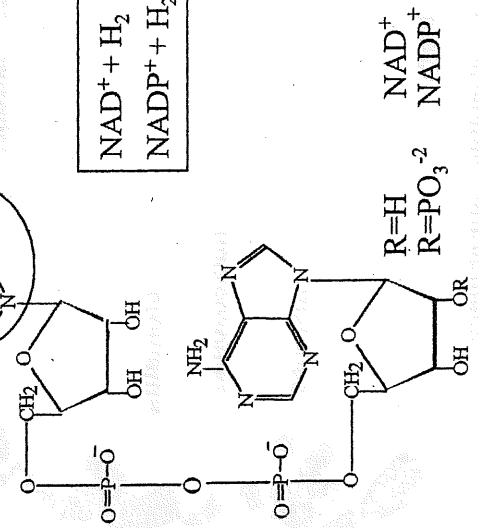
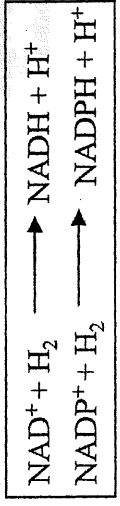
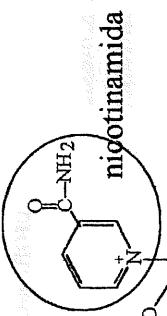


CDP-colina



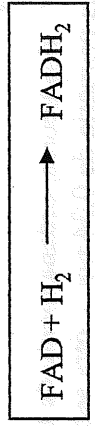
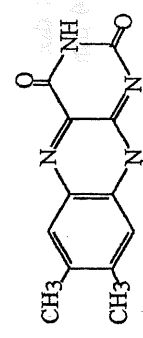
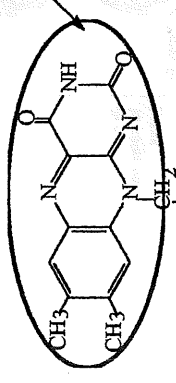
Cofactores enzimáticos de oxidoreductasas

Nucleótidos de nicotinamida → coenzimas

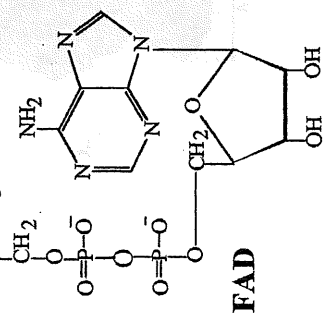


Nucleótidos de flavina → grupo prostético de flavoproteínas

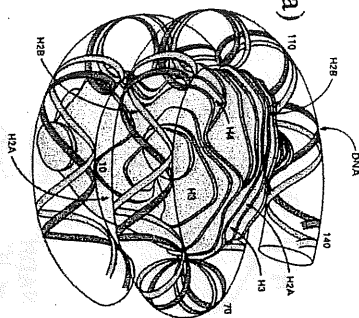
isoxaloxacina



grupo prostético de NADH deshidrogenasa



ADN (nucleosoma)



Almacenamiento de caracteres hereditarios (genes)

Gen: segmento de ADN que contiene la información para la síntesis de una única cadena polipeptídica. Gen eucarionte: exones – intrones.

ADN en forma de superhélice levógira
alrededor del octámero de histonas

Estructura del ADN

F. Miescher (1869) Nucleína (esperma de salmón, pus)

Edwin Chargaff

1- La composición de bases del ADN varía de una especie a otra.

2- Las muestras aisladas de distintos tejidos de la misma especie tienen la misma composición de bases.

3- La composición de bases de una especie no varía con la edad, ni con su estado nutricional ni con variaciones ambientales.

4- En todos los ADN, independientemente de la especie

Nº unidades A = Nº unidades T

Nº unidades G = Nº unidades C

$$A + G = T + C.$$

Franklin y Wilkins

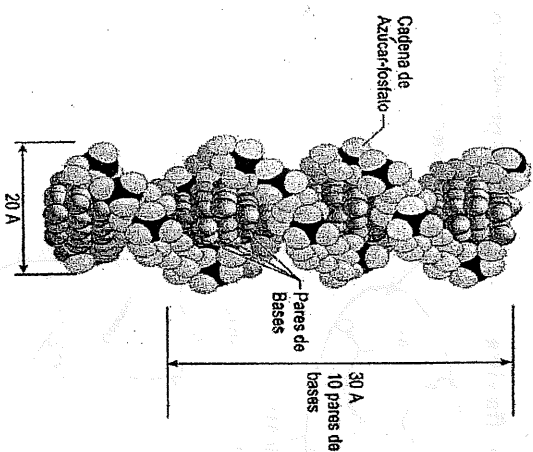
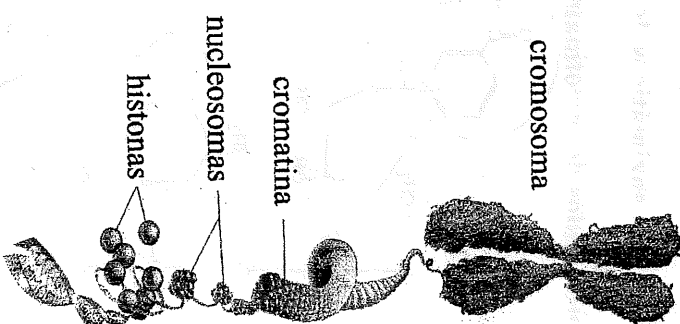
Difracción rayos X: dos hebras, ordenamiento de tipo helicoidal dos periodicidades, una primaria de 0,34 nm. y otra secundaria de 3,4 nm.

Watson y Crick (1953)

Dos cadenas antiparalelas complementarias

Doble hélice dextrógira

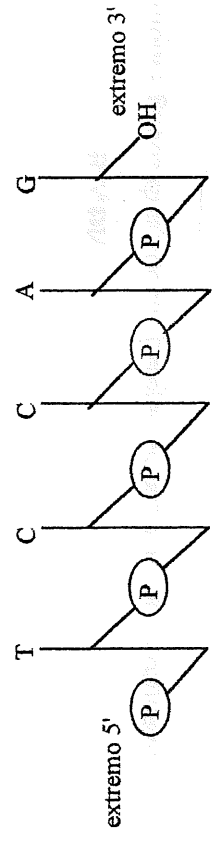
Puentes de H entre bases



Estructura primaria

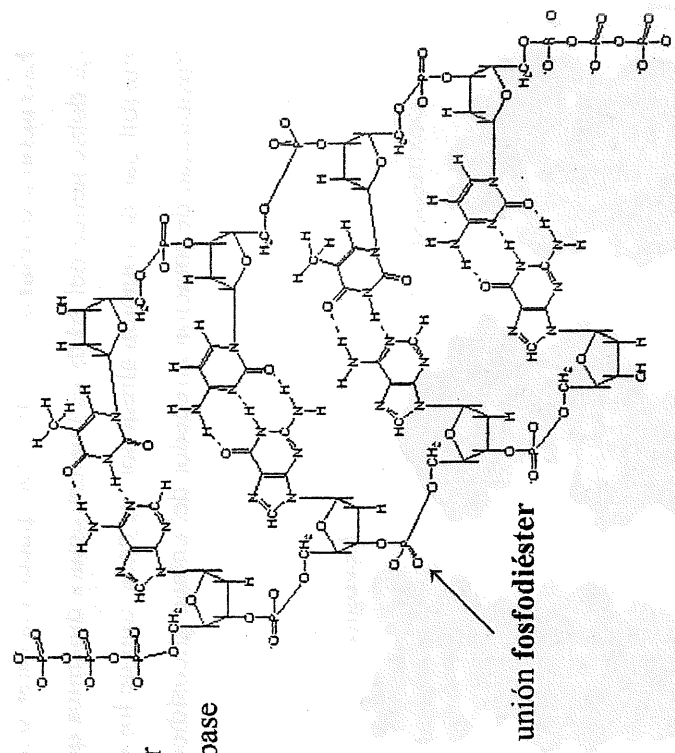
Secuencia de nucleótidos unidos en forma covalente por uniones fosfodiéster

Secuencia: se describe empezando por el extremo 5' y nombrando sólo la base

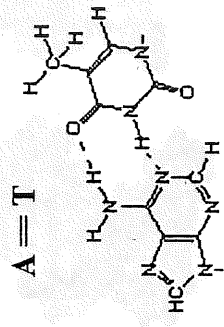
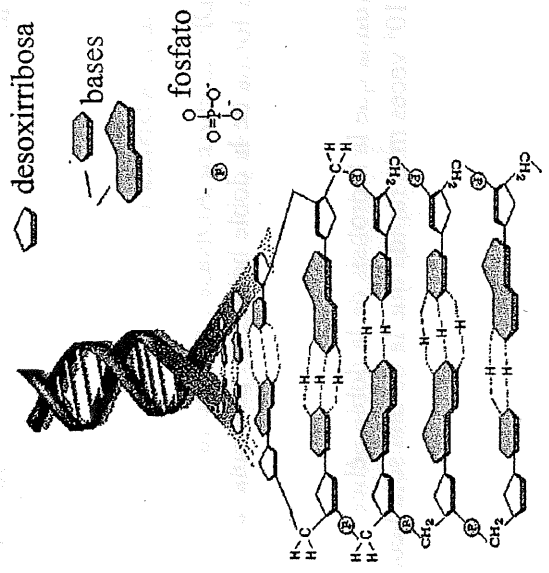


Estructura secundaria

Carácter dicatenario estabilizado por puentes de hidrógeno entre bases



Complementariedad de bases



El apareamiento específico de bases permite la duplicación y transcripción de la información genética por medio de la síntesis de cadenas complementarias a las ya existentes en ambos procesos, así como la secuenciación correcta de aminoácidos en la cadena polipeptídica durante la traducción de ese código.

Estructura terciaria

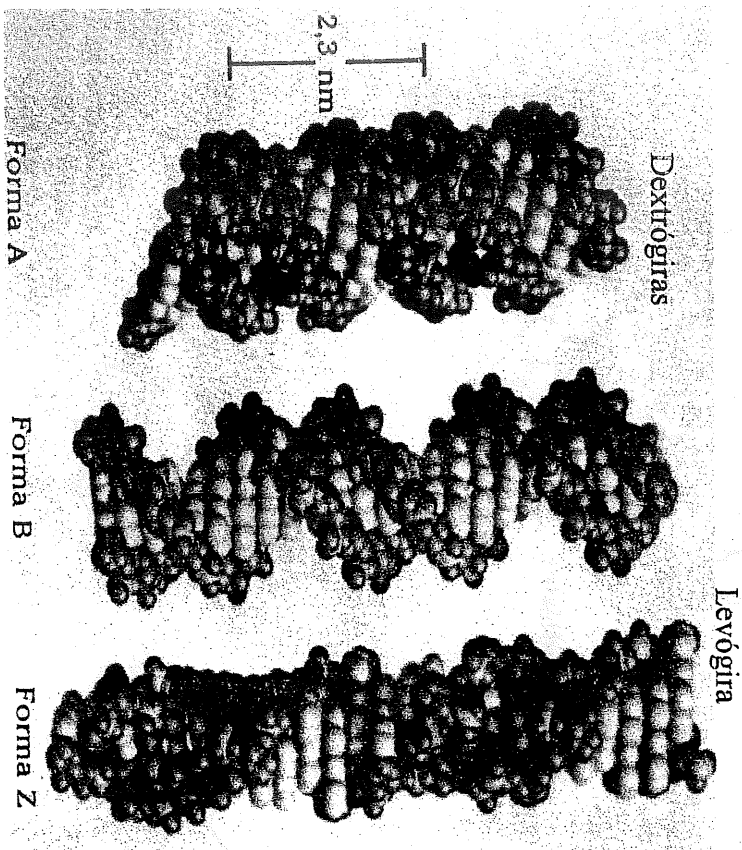
El ADN puede curvarse o super-enrollarse

La doble hélice del ADN es una estructura dinámica que puede adoptar diversas formas

Posibilidad de rotación alrededor de cada uno de los enlaces del esqueleto

Posibilidad de rotación alrededor del enlace glicosídico.

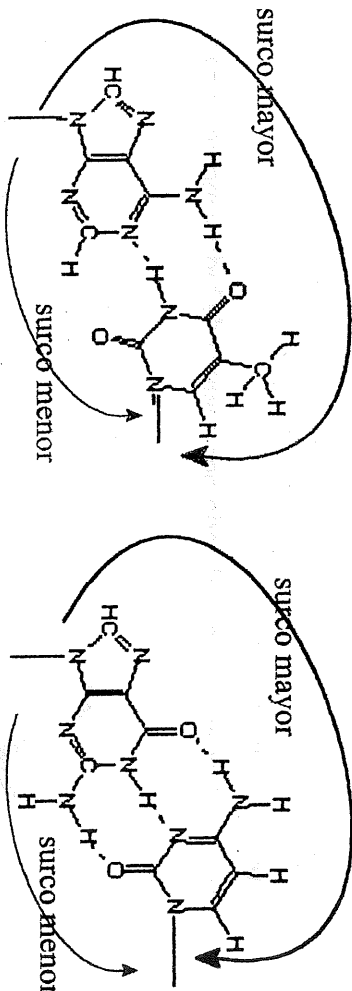
} Flexibilidad



forma más común

B-ADN

Las uniones glicosídicas de las parejas de bases no son colineales



Interacción del ADN con la ADNasa I

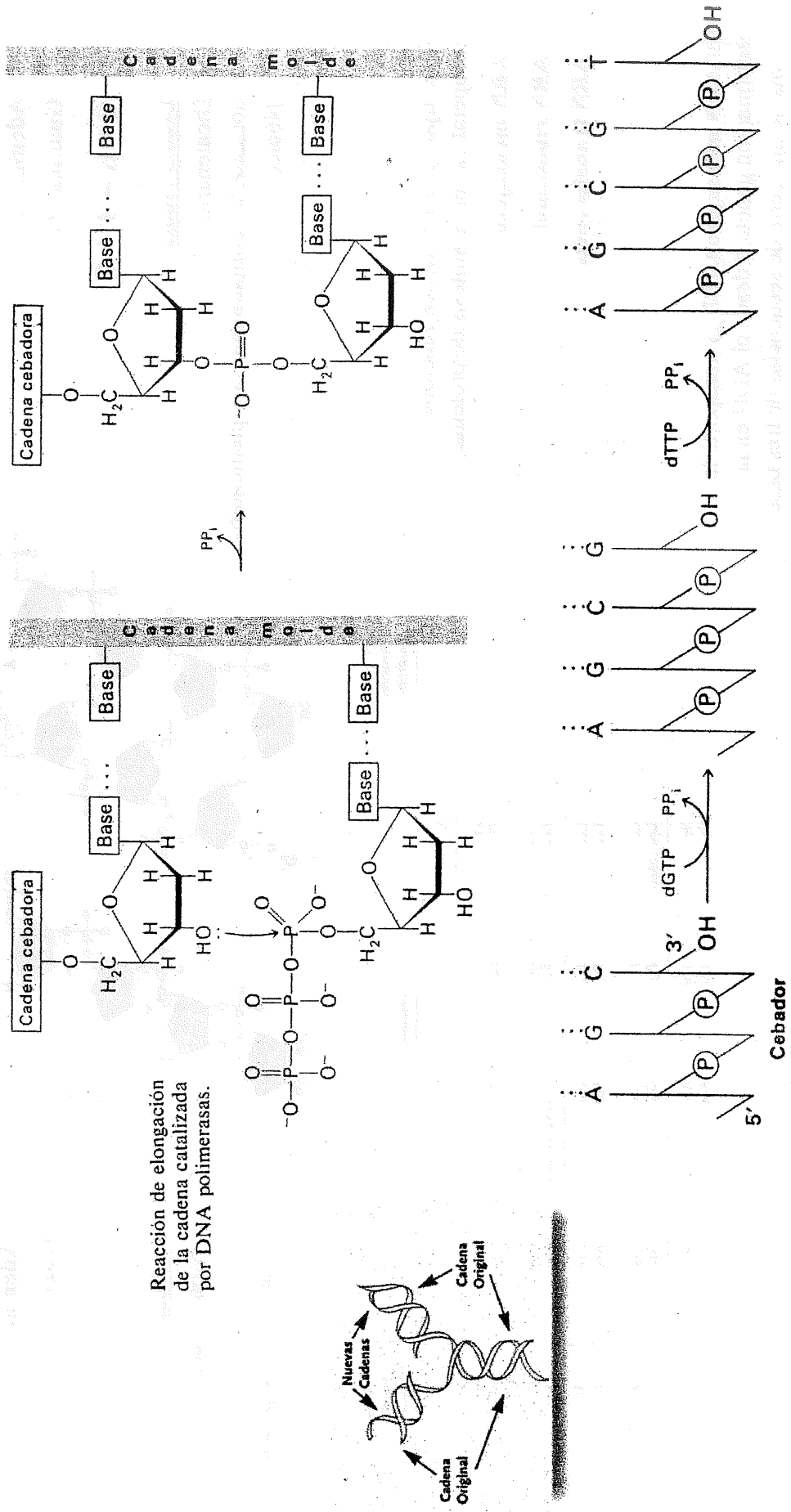
En su interacción con el ADN, la enzima ADNasa I no discrimina secuencia, sólo reconoce la forma de la doble hélice, en particular a cada tipo de surco.

La estereoespecificidad determina que la hidrólisis de la doble hélice catalizada por la enzima sea 10^4 veces más rápida que la de una sola hebra

Transmisión de caracteres hereditarios

Replicación del ADN

Los nucleótidos trifosfato son precursores de los ácidos nucleicos



Las DNA polimerasas catalizan la elongación de las hebras de DNA en dirección 5' → 3'.

Otro tipo de ácido nucleico que lleva la información del núcleo al citoplasma: el ARN_m

ADN

Citosina C

Timina T

Adenina A

Guanina G

$A + G = T + C$

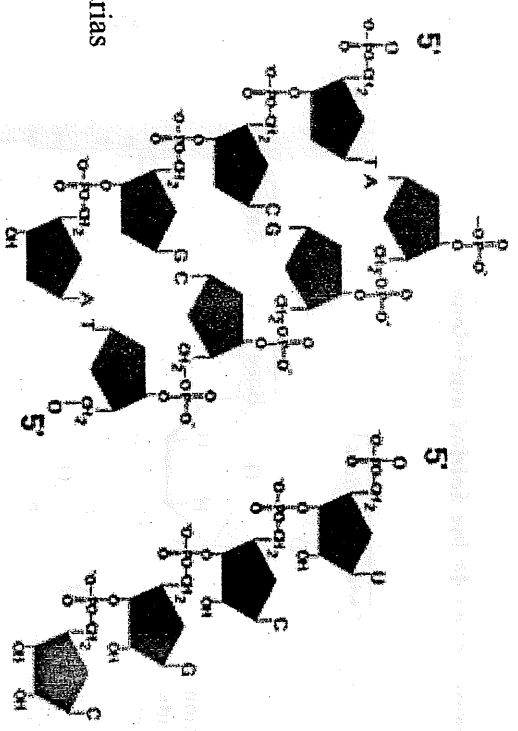
Desoxi-ribosa

Dicatenario

dos cadenas antiparalelas complementarias

Núcleo

DNA



RNA

ARN

Citosina

Uracilo U

Adenina

Guanina

Ribosa

Monocatenario

Núcleo y Citoplasma

Primera posición (extremo 5')	Segunda posición				Tercera posición (extremo 3')
	U	C	A	G	

U	U	Phe	Leu	Ile	U
	Phe	Leu	Leu	Ile	C
	Leu	Leu	Leu	Ile	A
	Leu	Leu	Leu	Ile	G

C	U	Pro	His	Arg	U
	Pro	Pro	His	Arg	C
	Pro	Pro	His	Arg	A
	Pro	Pro	His	Arg	G

A	U	Thr	Asn	Ser	U
	Thr	Thr	Asn	Ser	C
	Thr	Thr	Asn	Ser	A
	Thr	Thr	Asn	Ser	G

G	U	Val	Ala	Gly	U
	Val	Val	Ala	Gly	C
	Val	Val	Ala	Gly	A
	Val	Val	Ala	Gly	G

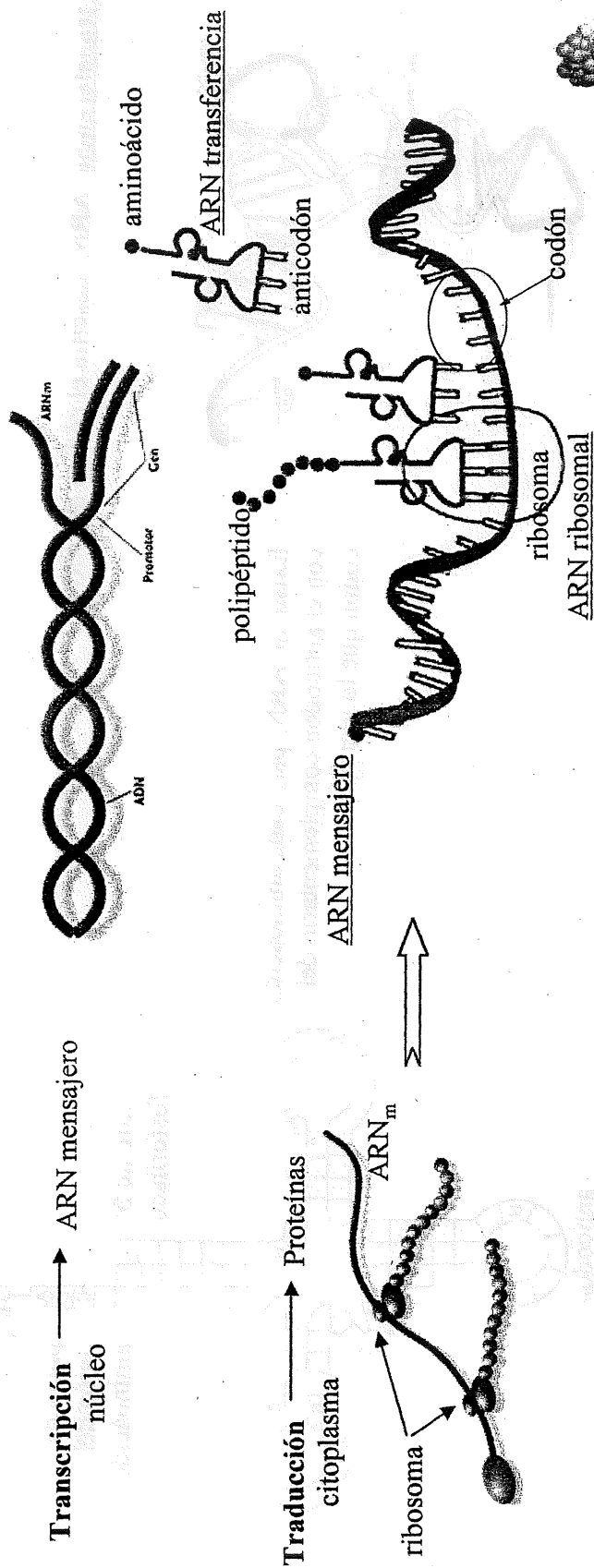
Tres tipos de ARN tienen funciones cooperativas en la síntesis de proteínas

ARN mensajero

ARN ribosomal

ARN transferencia

El ARN mensajero (ARN_m) transporta la información genética desde el ADN en la forma de una serie de secuencias de tres bases (codones)



El ARN mensajero ARN_m lleva la información genética del núcleo al ribosoma (citoplasma).

Luego de la transcripción primaria se eliminan intrones y se unen exones

→ ARN_m funcional (una hebra)

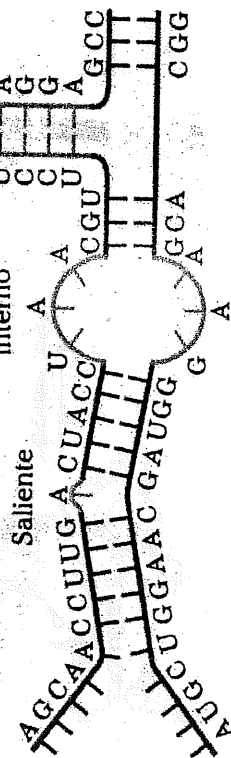
empaquetamiento dextrógiro

Estructuras secundarias en ARN

Horquilla

Hebras simples

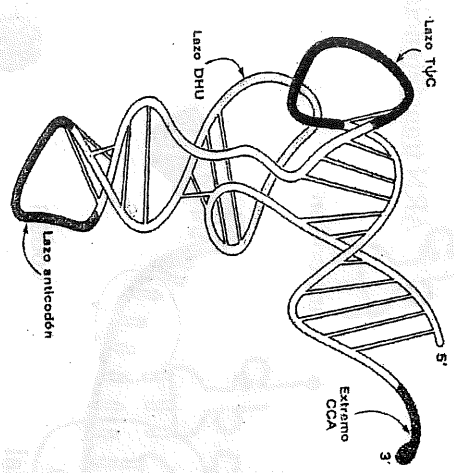
Bucle interno



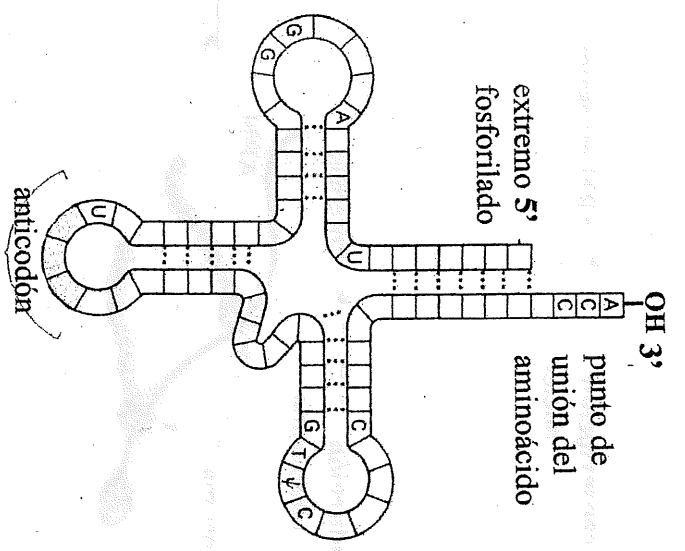
Tanto el ARN transferencia como el ARN ribosomal presentan formas de estructura secundaria debidas a segmentos autocomplementarios de la hebra



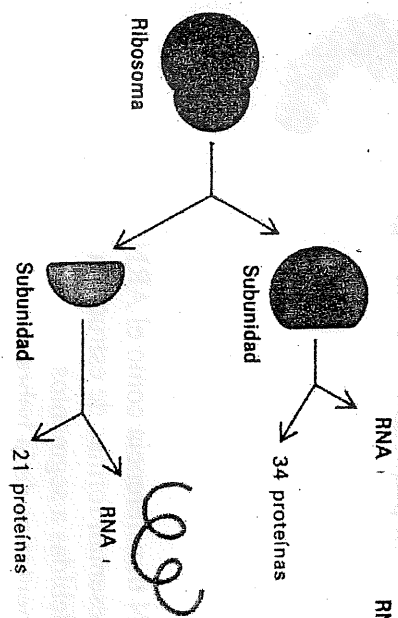
ARN transferencia ARN_m, descifra el código del ARN_m



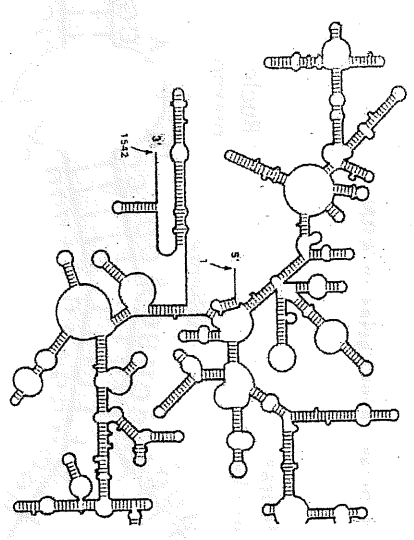
Existe un ARN_t, para cada aminoácido con el anticodón complementario del codón que lo identifica

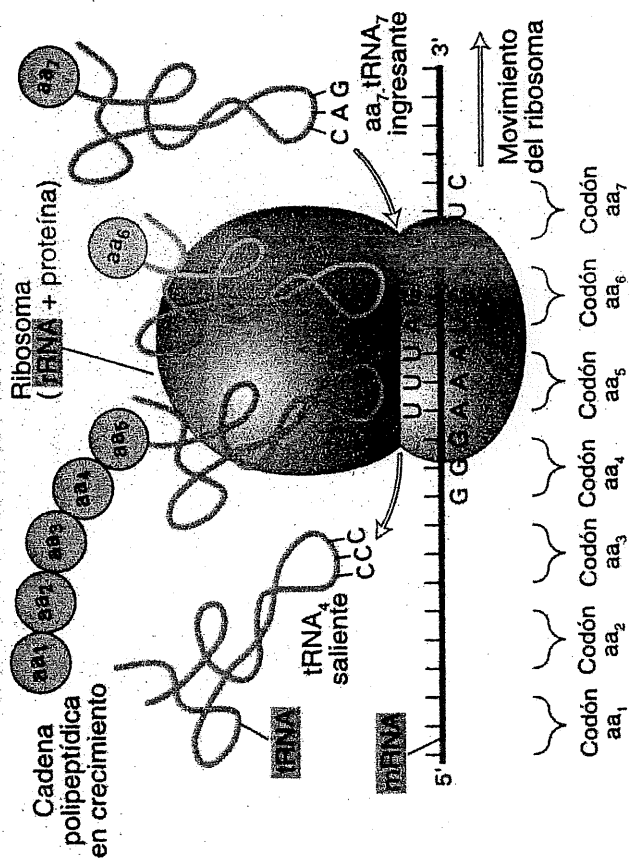


ARN ribosomal ARN_r

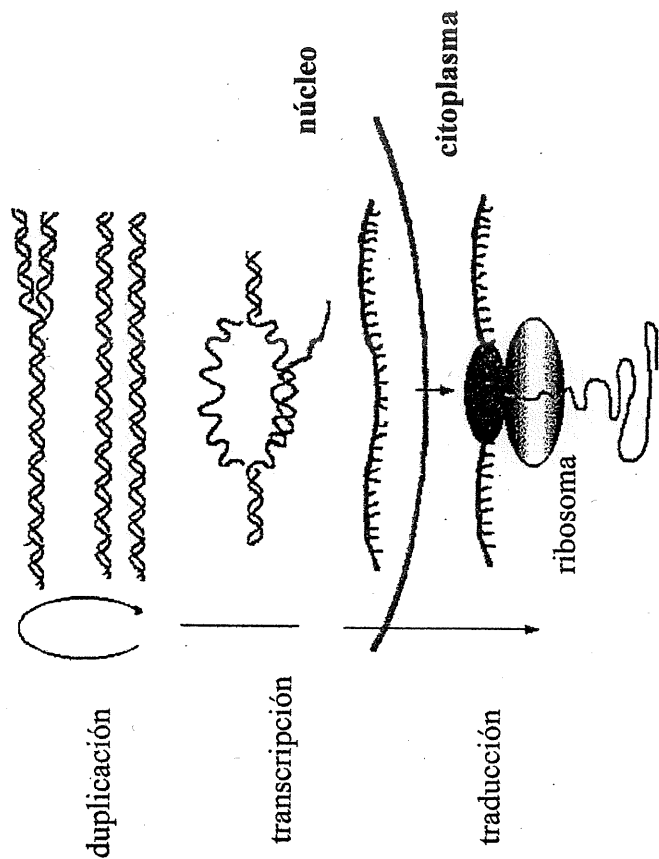


Estructuras secundarias





Una región de la subunidad mayor de cada ribosoma fija en secuencia los extremos aminoacilados de los ARN_t que ingresan y probablemente cataliza la formación de la unión peptídica.

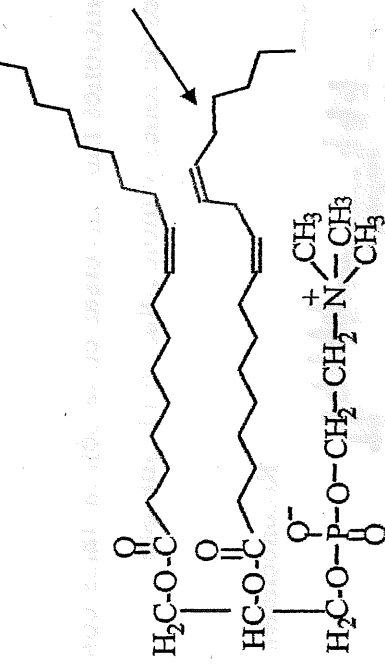


Complementariedad de bases

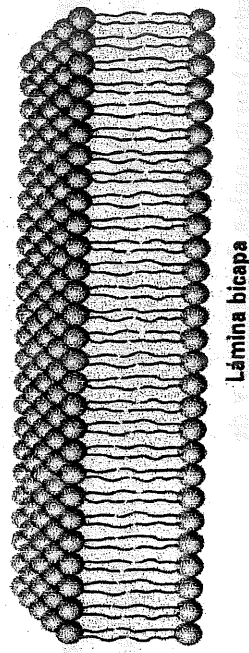
Transmisión de la información genética

Membrana plasmática

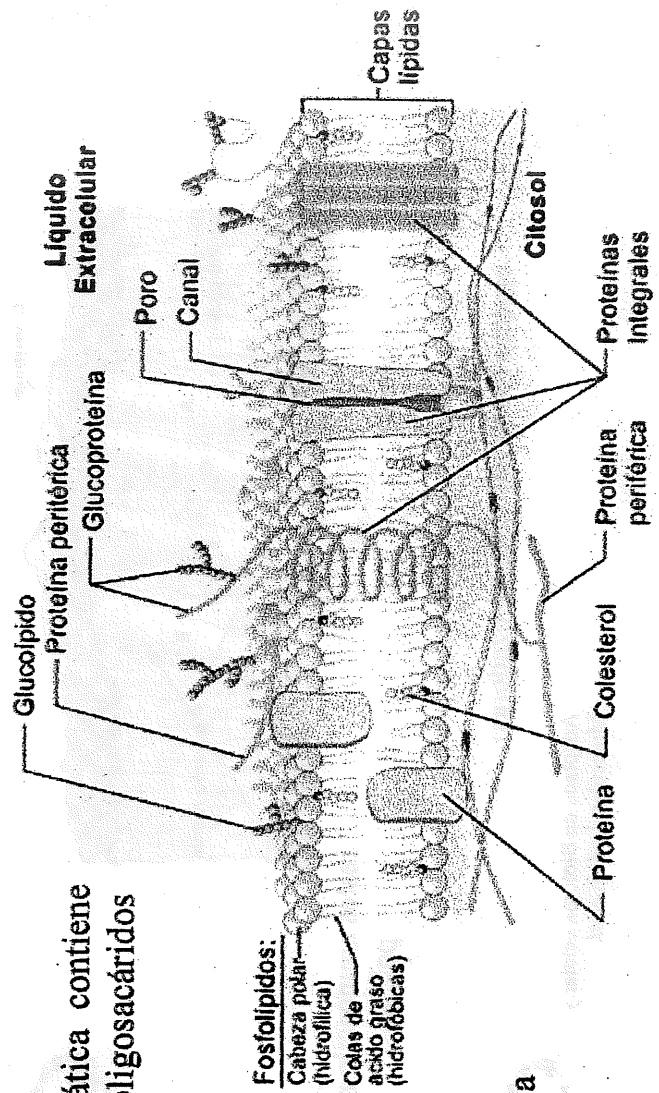
La base estructural es la bicapa lipídica con el interior formado por las colas hidrofóbicas de las moléculas de lípidos compuestos (90% fosfolípidos en células vegetales). La composición química de la membrana celular es la que determina qué moléculas pueden atravesarla libremente (por difusión) y cuales no. Permite el pasaje fácil de moléculas hidrofóbicas, pero el medio lipídico interior es una barrera para iones y para la mayoría de las moléculas hidrofílicas.



hidrofóbico



La membrana plasmática contiene además proteínas y oligosacáridos



Mosaico fluido: La mayoría de las proteínas integrales y los lípidos compuestos tienen movilidad lateral. Fosfolípidos y glicolípidos pueden rotar alrededor de su eje longitudinal y moverse lateralmente dentro de cada capa. Las proteínas integrales pueden difundir entre los lípidos en el espacio bidimensional de la membrana

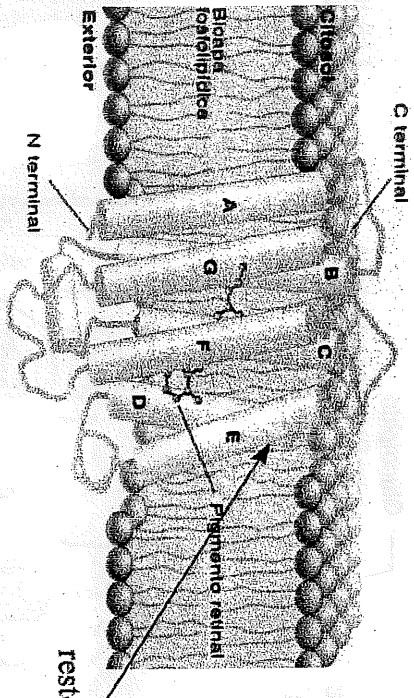
Las proteínas relacionadas con la membrana plasmática pueden ser **INTEGRALES** o **PERIFÉRICAS**.

Las **INTEGRALES** pueden atravesarla (**proteínas transmembrana**) o estar unidas en forma covalente a una estructura lipídica de la misma (**proteínas ancladas**).

PROTEÍNAS INTEGRALES

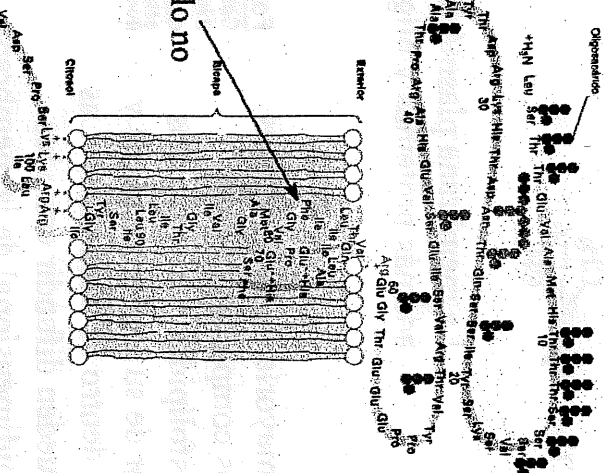
Proteínas transmembrana: Existen proteínas transmembrana con funciones muy diversas en la célula, tales como receptores de señales, reconocimiento, canales iónicos, transportadores de iones y moléculas, ATP sintasas.

Receptores hormonales, lumínicos y de moléculas aromatzizantes



opsinas (bacterias fotosintetizadoras)

restos aminoacilo no polares



Reconocimiento

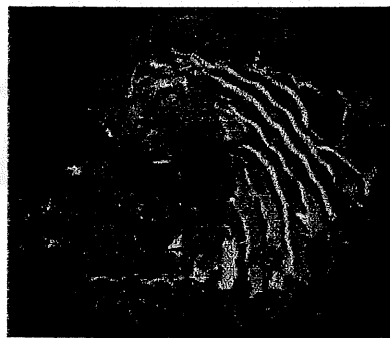
Analisis unidos a forma covalente

glicoproteínas

Adaptado de Biología celular y Molecular, Lodish et al.

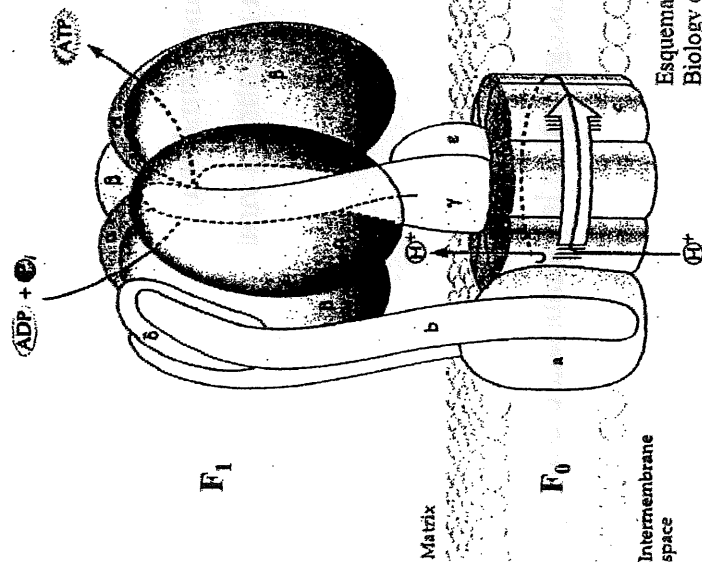
Transportadoras de moléculas y iones

Las proteínas transportadoras, los canales y las bombas son proteínas transmembrana.



Canales (porinas) Son proteínas transmembrana triméricas (3 subunidades idénticas). Su conformación permite el pasaje de iones y moléculas hidrofílicas pequeñas, por un conducto formado mayormente por restos aminoácido hidrofílicos.

Esquema de Biología Celular y Molecular. Lodish y col.



ATP sintasa F_0F_1

F₁ Hexámero (3 subunidades α + 3 subunidades β) descansa sobre subunidad γ (varilla) que se inserta en el anillo c y está unida a la subunidad e. Subunidad δ vincula F_1 a la subunidad b de F_0 .

F₀ Subunidades comunes (9-12): tres proteínas integrales a, b y c. Cada subunidad c, pequeña e hidrofóbica, atraviesa dos veces la membrana; la subunidad b sólo una vez e interactúa con F_1 .

La traslocación de protones ocurre en la interfase entre a y anillo c

Esquema de Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Buchanan y col.

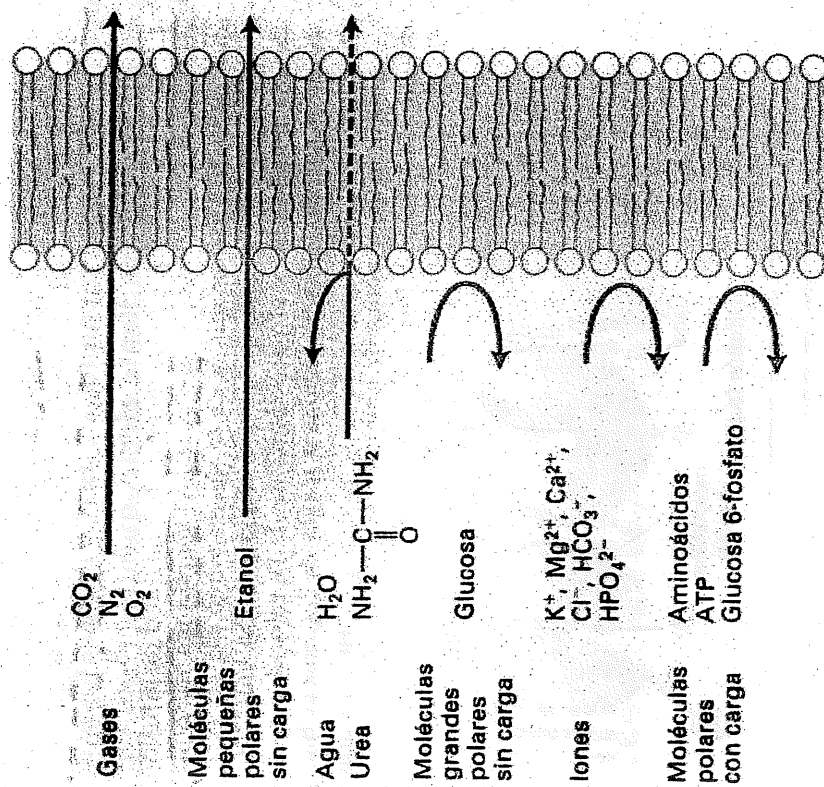
re-

Bicapa fosfolipídica artificial pura es permeable a moléculas hidrófobas y a algunas polares pequeñas sin carga, y ligeramente permeable al agua y a la urea, e impermeable a iones y moléculas polares grandes sin carga.

Esas diferencias se deben a que sólo son posibles las interacciones entre moléculas semejantes, lo cual determina la capacidad de las membranas celulares para regular el pasaje de moléculas o iones hacia dentro y afuera de las células y de las organelas.

El proceso por el cual moléculas no polares pasan a través de la membrana hacia el lado donde se encuentran en menos concentración se llama **difusión simple**, es el pasaje a favor del gradiente químico de gases (O_2 , CO_2) y moléculas pequeñas sin carga (urea, etanol) a través de bicapas lipídicas (proceso pasivo, ocurre sin gasto de energía)

La velocidad de difusión, es decir de movimiento a través de la bicapa, depende de la **lipofiliidad** de la molécula.



Esquema de Biología Celular y Molecular. Lodish y col.

La membrana plasmática es una barrera de permeabilidad selectiva entre la célula y el medio extracelular, así el citosol puede mantenerse diferente del medio que lo rodea. Las membranas de las organelas encierran un medio interno diferente al citosol. Existen asociaciones específicas de proteínas transportadoras en membranas plasmáticas y en diferentes membranas subcelulares relacionadas con procesos fisiológicos esenciales como el mantenimiento del pH citosólico, el transporte de glucosa, la acumulación de sacarosa y sales en las vacuolas de células vegetales y el flujo hídrico dirigido.

Los metabolitos **hidrofílicos** no pueden atravesar la barrera lipídica por difusión simple, a pesar de moverse a favor del **gradiente electroquímico**. Los **iones** tampoco difunden a través de la membrana, Na^+ y Cl^- , son iones pequeños que están rodeados por moléculas de agua en solución acuosa, tanto el tamaño como la carga de los mismos impiden que atraviesen la bicapa. Su transporte a través de la membrana depende de proteínas integrales de la misma que los transfieren de un lado al otro sin que entren en contacto con su interior hidrofóbico.

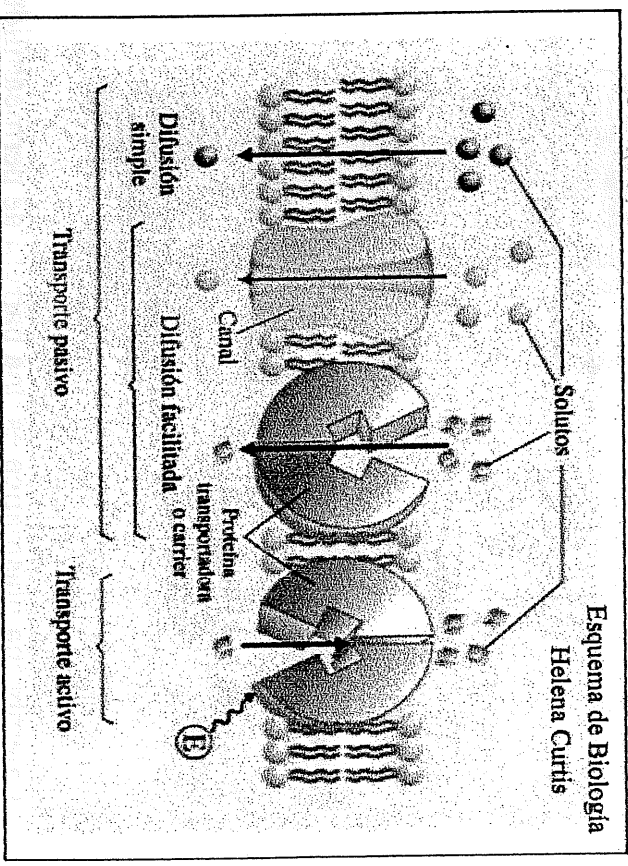
Aunque en los sistemas biológicos muchas moléculas y iones pasan a través de una membrana **a favor del gradiente electroquímico** liberando energía, existen otros que deben hacerlo **en contra del gradiente electroquímico** requiriendo energía. Se definen transporte pasivo y transporte activo de la siguiente manera:

Transporte pasivo:

En el transporte pasivo las moléculas o iones pasan a través de la membrana a favor de su gradiente electroquímico (**difusión simple y difusión facilitada**). La energía potencial del gradiente electroquímico dirige estos procesos pasivos.

Transporte activo:

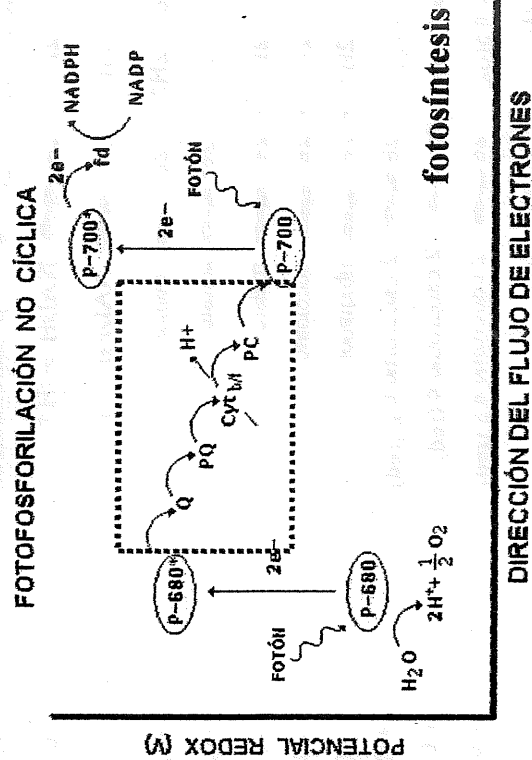
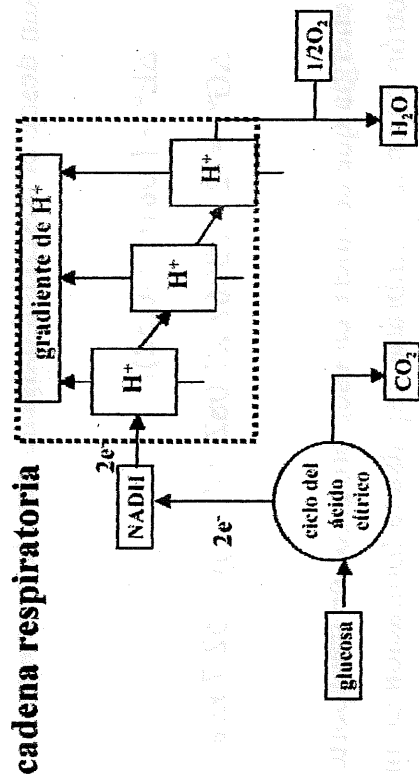
En el transporte activo las moléculas o iones pasan a través de la membrana en contra de su gradiente electroquímico, requiriendo energía, que puede provenir de la desfosforilación del ATP, si está involucrada una bomba dependiente de ATP, o del movimiento de un ión a favor de su gradiente electroquímico a través de la membrana (el **gradiente de protones** es una forma común de energía en los sistemas biológicos).



La difusión facilitada y el transporte activo ocurren a través de proteínas integrales de membrana.

Cómo y donde se genera el **gradiente de protones**?

En procesos metabólicos que liberan **energía química** (glucólisis, ciclo de los ácidos tricarboxílicos, respiración celular) o que absorben **energía lumínica** (fotosíntesis).



En ambos casos hay transporte de electrones dentro de la correspondiente membrana desde niveles altos de energía a otros más bajos. La variación de energía libre estándar que se produce en el transcurso de una reacción de óxido-reducción realizada en condiciones estándar ($25^\circ C$, concentración $1M$, $pH\ 7$) es proporcional a la diferencia entre el potencial de reducción estándar del aceptor de electrones y el del dador electrónico $\Delta E_0'$:

$$\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E_0'$$

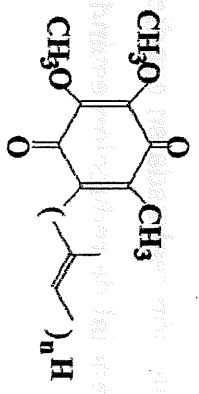
La tabla siguiente contiene los valores de potencial de reducción estándar de algunas de las hemi-reacciones involucradas en procesos metabólicos de óxido-reducción:

Ecuación del electrodo	E _{0'} (V)
Acetato + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ acetaldehído 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ H ₂	-0,58 -0,421
α-oxoglutarato + CO ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ isocitrato	-0,38
Acetoacetato + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ β-hidroxiubutirato	-0,346
NAD ⁺ + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ NADH + H ⁺	-0,320
NADP ⁺ + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ NADPH + H ⁺	-0,324
Acetaldehído + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ etanol	-0,197
Piruvato + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ lactato	-0,185
Oxalacetato + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ malato	-0,166
Fumarato + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ succinato	-0,031
Ubiquinona + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ ubiquinol	+0,10
2 citocromo b k(ox) + 2e ⁻ ⇌ 2 citocromo b k (red)	+0,030
2 citocromo c (ox) + 2e ⁻ ⇌ 2 citocromo c (red)	+0,254
2 citocromo a ₃ (ox) + 2e ⁻ ⇌ 2 citocromo a ₃ (red)	+0,385
1/2 O ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻ ⇌ H ₂ O	+0,816

En la fosforilación oxidativa interviene la CoQ en la cadena de transporte de electrones

forma oxidada: quinona CoQ
forma reducida: hidroquinona CoQH₂

La quinona CoQ se reduce y al hacerlo toma dos protones de un lado de la membrana, transformándose en CoQH₂.
Difunde hacia el otro lado de la misma y se oxida cediendo sus electrones, y dos protones al espacio intermembrana.

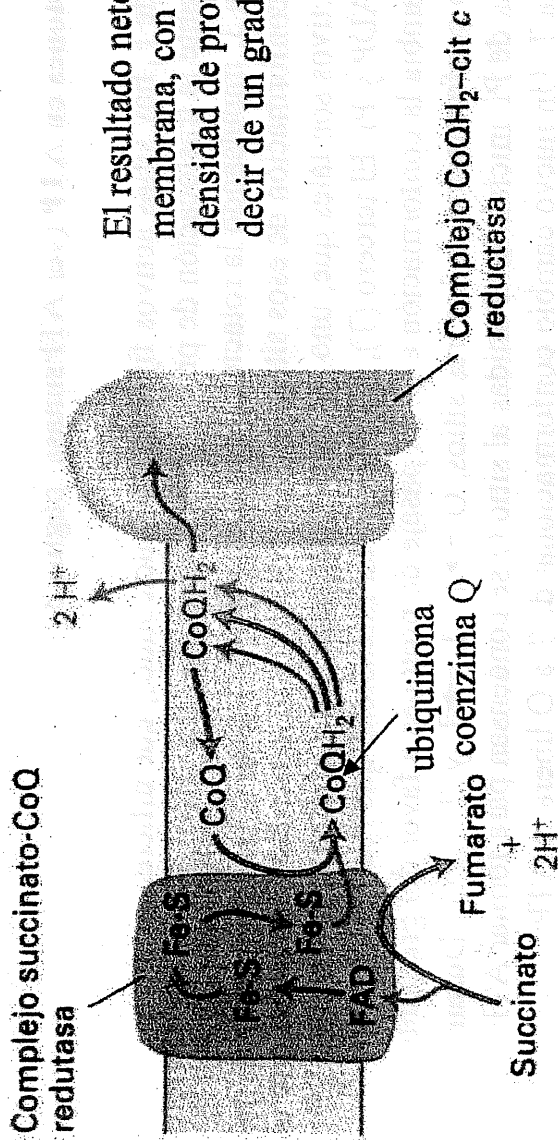


Los e⁻ liberan energía al pasar de un nivel alto de energía potencial a uno menor, esa energía es proporcional a ΔE, la diferencia entre la energía potencial E_{0'} entre el aceptor y el dador de e⁻.
Si ΔG^{0'} es <0 la reacción libera energía, para eso ΔE^{0'} debe ser >0 como en el caso en que los electrones pasan desde el NADH al oxígeno para formar agua.

$$\Delta E^{0'} = [0,816 - (-0,32)]$$

$$\Delta G^{0'} = -2 \times 23062 \times [0,82 - (-0,32)] = -52,7 \text{ kcal.}$$

La energía que se libera en esos procesos de transporte electrónico en la membrana impulsa la formación de un **gradiente de protones** a través de la misma.



El resultado neto es la traslocación de 2H^+ a través de la membrana, con la consiguiente creación de una a mayor densidad de protones en el espacio intermembrana, es decir de un gradiente de protones.

La energía involucrada en este gradiente, es decir el potencial electroquímico de protones así generado, puede ser utilizado para transportar otros iones y solutos en contra de sus gradientes a través de la membrana o bien para la síntesis de ATP. La cantidad de energía necesaria para obtener ATP por fosforilación de ADP es 7,3 kcal.

Estos conceptos aceptados como mecanismo universal de conservación de la energía biológica fueron desarrollados por Peter Mitchell en la década del 60 (Premio Nóbel Química 1978) en la teoría del acoplamiento quimiosmótico.

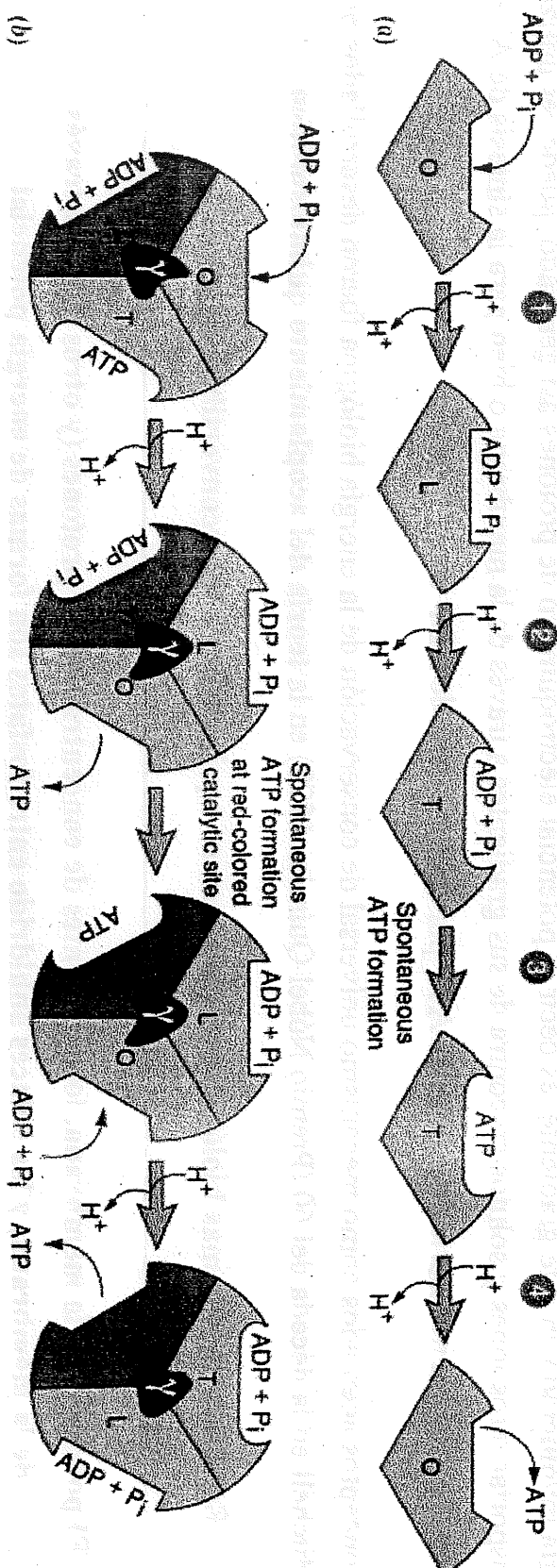
En todos los sistemas biológicos existen formas equivalentes e interconvertibles de energía

El potencial de la membrana, los gradientes de concentración de protones (y otros iones) a través de la membrana, y los enlaces anhidrido entre fosfatos son formas de energía potencial químicamente equivalentes e interconvertibles.

Transformación del gradiente de protones en ATP (ver ATP sintasa, página 3)

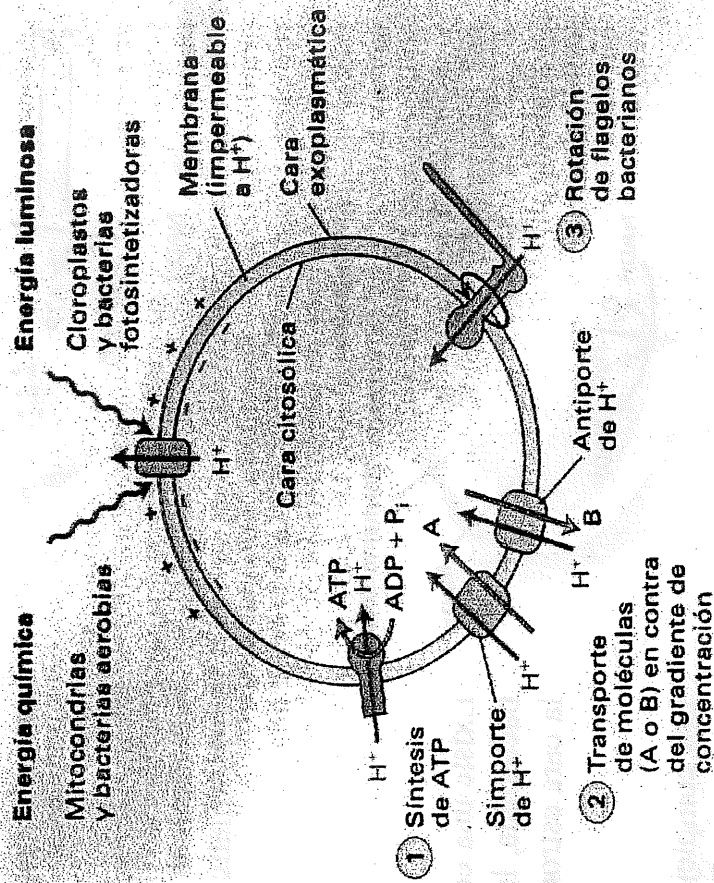
En cada una de las tres subunidades β de F_1 hay sitios activos fijadores de nucleótidos, que difieren en su conformación (O, L, T). Se cree que durante la traslocación de protones, las subunidades c rotan en el sentido de la flecha indicada en la figura de página 3, impulsando la rotación de la subunidad γ respecto del hexámero $\alpha\beta$. La rotación de γ dentro de F_1 altera la conformación de esos sitios.

Las conformaciones de los tres sitios activos son tales que, uno (O) fija débilmente tanto ATP como ADP y P_i , el segundo (L) fija con mayor firmeza ADP y P_i . El tercero (T), los fija con tal intensidad que reaccionan para formar ATP, el cual se libera cuando cambia la conformación a O. El pasaje de protones a favor del gradiente hace rotar la subunidad γ cambiando la conformación de los tres sitios, O $\rightarrow$ L, L $\rightarrow$ T y T $\rightarrow$ O. Durante ese proceso una molécula de ADP y una de P_i inicialmente unidas al sitio O se condensan para formar ATP mientras el sitio pasa por la forma L a la T. Un nuevo cambio conformacional de T a O libera el ATP.



Teoría del acoplamiento quimiosmótico

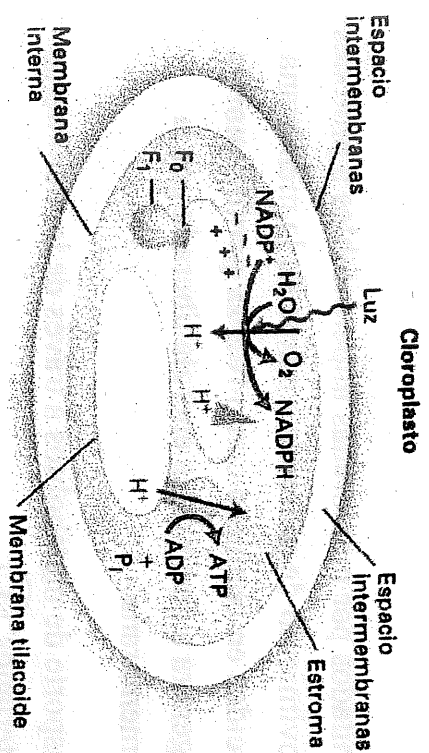
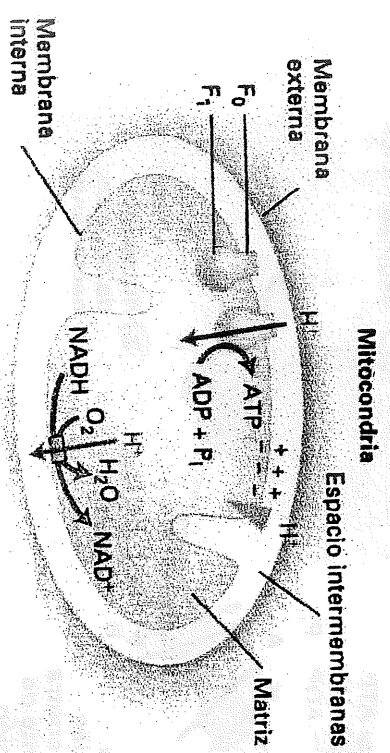
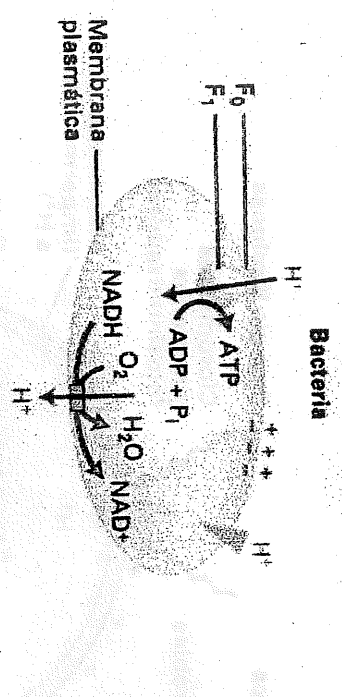
Esquema de Biología Celular y Molecular. Lodish y col.



La energía química (cadena respiratoria) como la luminosa (fotosíntesis) generan gradientes de protones

El acoplamiento quimiosmótico sólo es posible en compartimentos limitados por membranas impermeables a protones. En la fotosíntesis el transporte fotoinducido de electrones induce un movimiento de protones a través de la membrana que genera un gradiente transmembrana de $[H^+]$ y otro de voltaje, conocidos en conjunto como **fuerza protón-motriz (FPM)**. En las mitocondrias y bacterias aerobias este tipo de fuerza se genera a partir de la energía liberada por la oxidación de biomoléculas y se usa para mover protones a través de la membrana.

La fuerza protón-motriz puede impulsar la síntesis de ATP (1), el transporte de metabolitos a través de la membrana en contra del gradiente electroquímico (2) y la rotación de flagelos bacterianos (3)



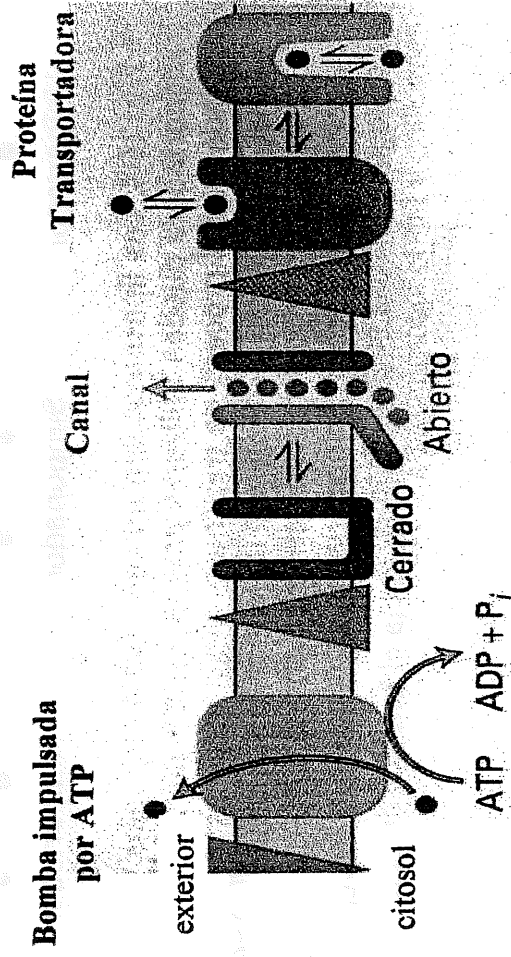
Paralelismo entre los procesos de acoplamiento quimiosmótico que ocurren en las membranas bacteriana, interna mitocondrial y tilacoides.

En los tres esquemas se considera cara citosólica a la superficie de la membrana en contacto con un área sombreada y cara exoplasmática a la opuesta.

Existe una equivalencia entre la cara citosólica de la membrana bacteriana, la cara matricial de la membrana mitocondrial interna y la cara estromal de la membrana tilacoides.

Los complejos F_0F_1 están ubicados de igual manera en los tres casos, con F_1 hacia la cara citosólica. Durante los procesos de transporte de electrones, los protones son bombeados hacia la cara exoplasmática, creando a través de la membrana, un gradiente de $[H^+]$ ($[H^+] >$ en cara exoplasmática que en cara citosólica) y un potencial eléctrico (cara citosólica negativa). El flujo inverso de esos protones a través de los complejos F_0F_1 (ATP sintasa) a favor de su gradiente electroquímico, genera ATP.

Mecanismos de transporte de iones y moléculas que no difunden a través de la membrana.

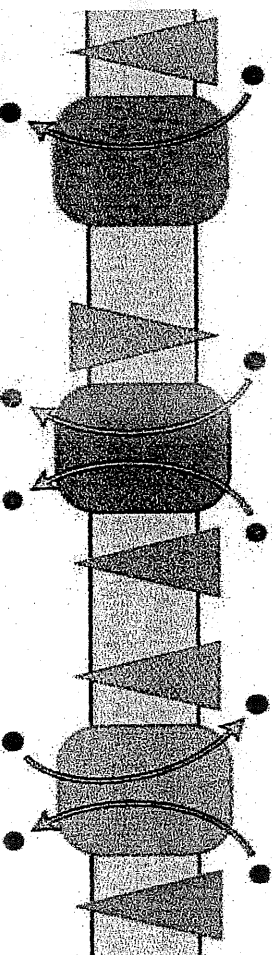


Esquemas de Biología Celular
y Molecular. Lodish y col.

Proteínas canal o porinas.

Son proteínas integrales de membrana que transportan agua o iones a favor del gradiente electroquímico (transporte pasivo), forman poros hidrofílicos que atraviesan la membrana permitiendo exclusivamente el pasaje de iones (canales iónicos); el tipo de ión se selecciona de acuerdo al tamaño y a la carga. Las proteínas canal están muchas veces cerradas y se abren en respuesta a señales específicas. Los canales de K^+ , en general abiertos en membranas animales, aseguran su potencial eléctrico normal de reposo.

Proteínas transportadoras: Son proteínas integrales de membrana con alto grado de especificidad. Cambian su conformación al fijar la molécula transportada.

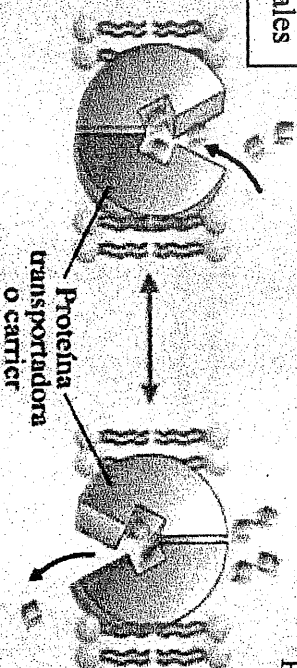


Uniportador

Simportador

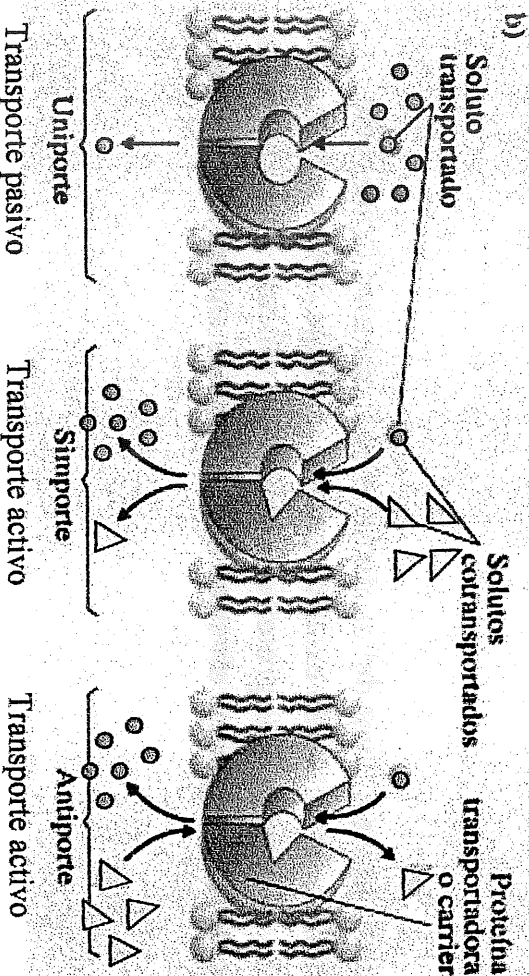
Antiportador

cambios
conformacionales



Esquema de Biología

Helena Curtis



Uniporte (transportan una sola molécula por vez a favor del gradiente (difusión facilitada))

Ej: difusión de glucosa o aminoácidos a través de la membrana plasmática hacia el interior de células de mamíferos.

Cotransporte: Es un tipo de transporte activo, en el que se mueven simultáneamente dos moléculas. Un ión o molécula es transportado en contra de su gradiente electroquímico con la energía liberada por el movimiento de otro ión (generalmente protón) a favor de su gradiente electroquímico.

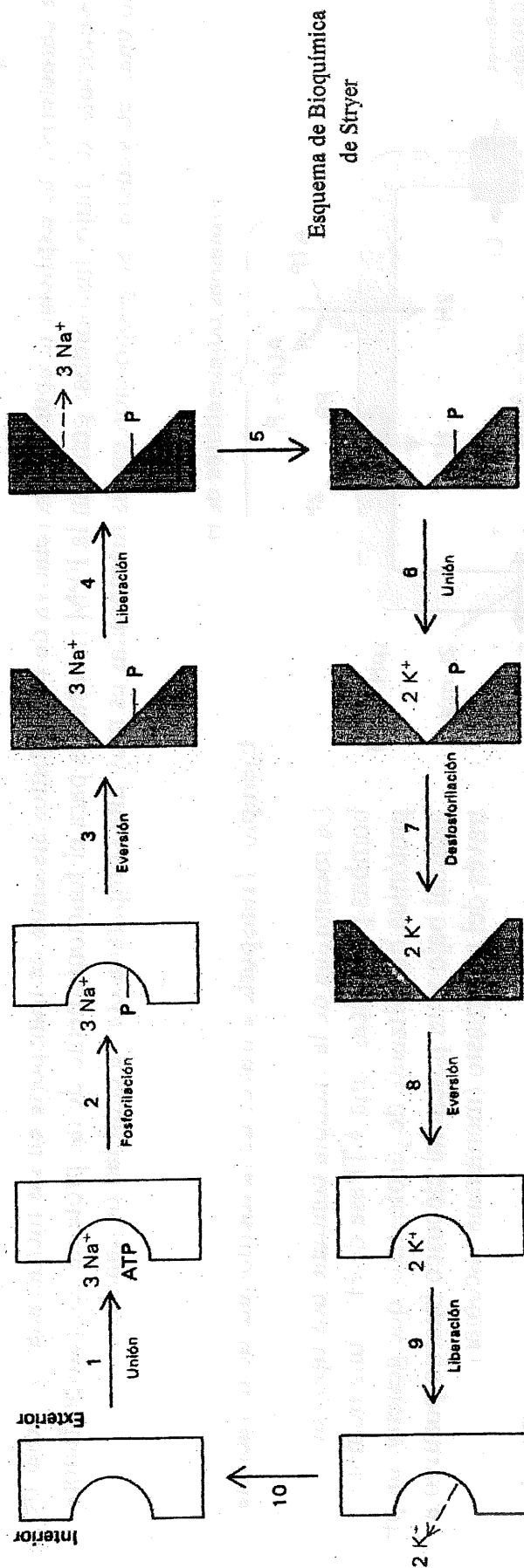
El cotransporte puede ser simporte o antiporte.

Simporte: Las dos moléculas se mueven en el mismo sentido.

Antiporte: Las dos moléculas se mueven en sentido opuesto.

Bombas impulsadas por ATP (ATPasas): Las bombas utilizan energía liberada por la hidrólisis de ATP para impulsar moléculas o iones en contra del gradiente electroquímico. Transiciones conformacionales complejas de largo alcance en uno o más de sus polipéptidos permiten la traslocación de H^+ . Algunas ATPasas, como las del tonoplasto, usan la energía de hidrólisis del ATP para generar gradiente de protones.

Diagrama esquemático de la bomba sodio-potasio: La hidrólisis de una molécula de ATP impulsa tres iones Na^+ hacia fuera y dos iones K^+ hacia adentro de la célula, en contra de sus gradientes electroquímicos.



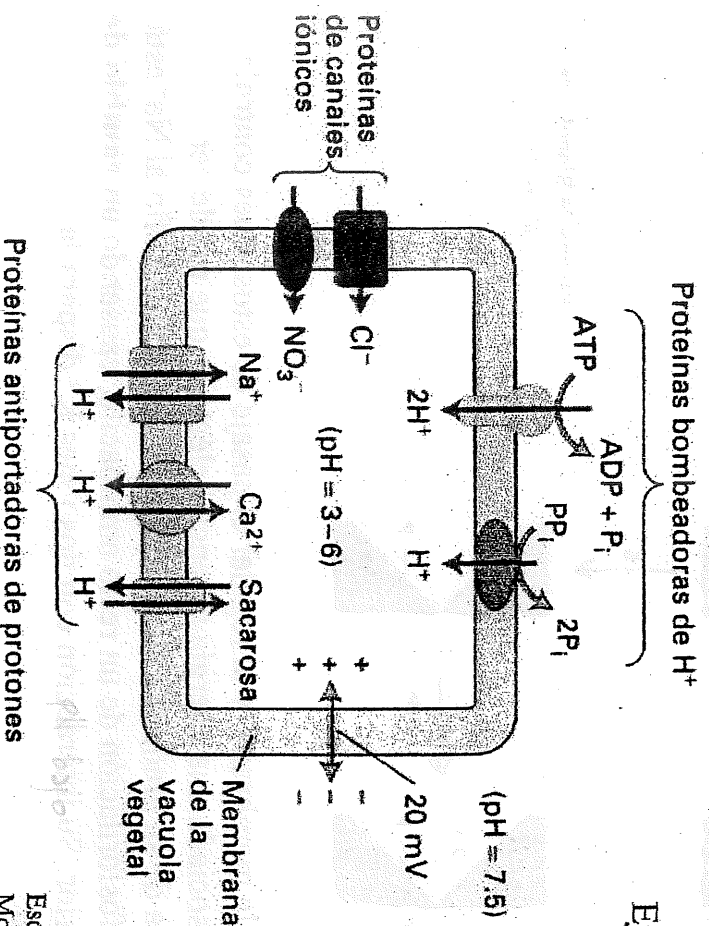
Este proceso genera un gradiente de iones Na^+ y K^+ a través de la membrana, y al regular el pasaje de estos iones controla el volumen de las células animales. El gradiente generado, tiene asociada una energía potencial eléctrica que puede ser aprovechada en el transporte activo de otras sustancias en contra de su gradiente electroquímico. La cavidad afin al Na^+ está hacia el citosol. Al ser ocupada por tres iones Na^+ se dispara la fosforilación de un resto aminoácido, causando un **cambio de conformación** que presenta una cavidad afin a K^+ hacia el exterior. Su interacción con dos iones K^+ dispara la desfosforilación volviendo a la conformación inicial más estable.

Las diferencias funcionales entre las proteínas relacionadas a transporte, determinan su abundancia en las membranas vegetales. Para acoplar la energía del ATP a procesos de transporte, las bombas experimentan transiciones conformacionales complejas de largo alcance en uno o más de las subunidades que las forman, por lo cual la velocidad con que las moléculas o iones pasan a través de ellas es relativamente baja (10^2 por segundo).

Las proteínas transportadoras también presentan cambios conformacionales durante el transporte, en que el sitio de unión alterna entre uno y otro lado de la membrana (figura pág 13), aunque no tienen interacciones de largo alcance con sustratos solubles, de modo que sus velocidades son un poco mayores (10^3 por segundo).

En contraste con bombas y transportadoras, los canales no presentan cambios conformacionales durante el transporte, que ocurre rápidamente ($10^6 - 10^8$ por segundo).

Estas características explican la abundancia relativa de los distintos sistemas de transporte en las membranas. A pesar de su baja velocidad de flujo, las bombas generan la FPM necesarias para el funcionamiento de las proteínas cotransportadoras, por lo cual, en general, su proporción en las membranas es muy alta comparada con la cantidad de canales.



Ejemplo: Transporte a través de la membrana de la vacuola

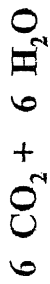
La membrana de la vacuola contiene dos tipos de bombas protonicas: una ATPasa de H⁺ y una bomba protonica hidrolizante de pirofosfato, que generan un pH luminal bajo y un potencial eléctrico interno positivo a través del tonoplasto (membrana vacuolar).

Ese potencial interno positivo impulsa el movimiento de Cl⁻ y de NO₃⁻ desde el citosol a través de canales proteicos. Los antiportadores protonicos impulsados por el gradiente de protones, acumulan Na⁺, Ca²⁺ y sacarosa en el interior de la vacuola.

Proteínas antiportadoras de protones

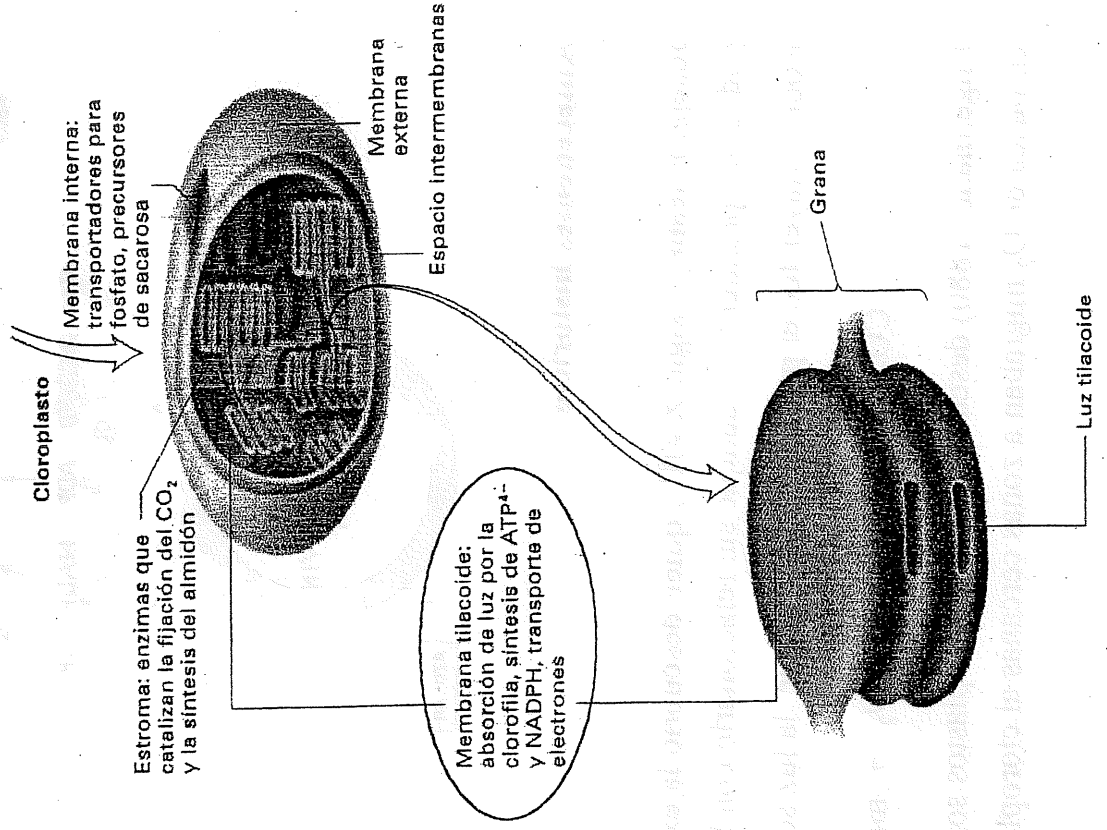
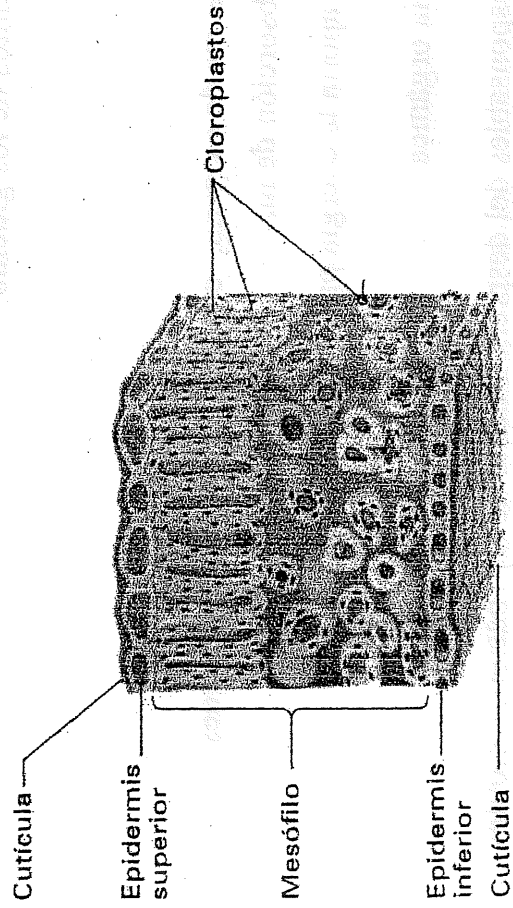
Esquema de Biología Celular y Molecular. Lodish y col.

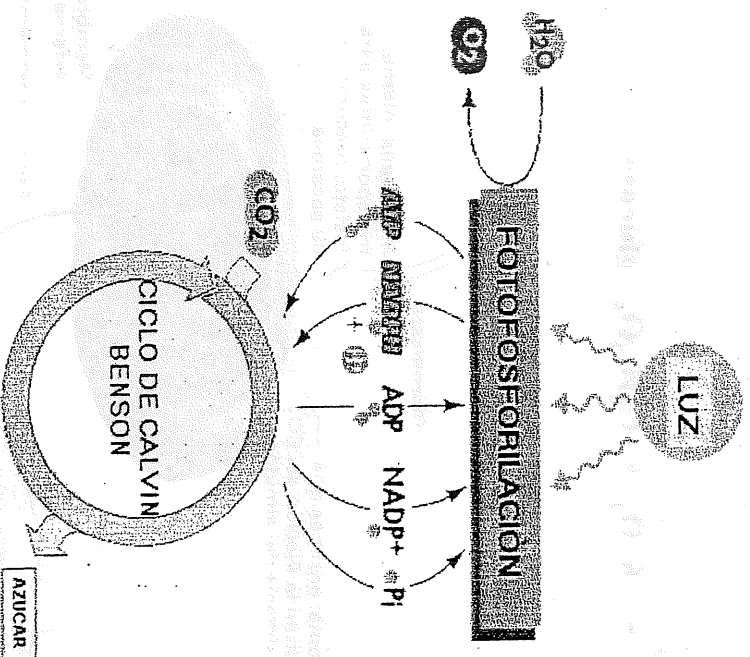
Fotosíntesis



Fotosíntesis es el proceso físico-químico por el cual plantas, algas y bacterias fotosintéticas utilizan energía lumínica para sintetizar compuestos orgánicos. En la mayoría de los casos el proceso libera O_2 y toma CO_2 de la atmósfera para la biosíntesis de hidratos de carbono y otros compuestos carbonados.

Hoja





Antecedentes históricos

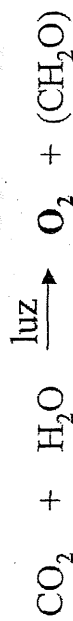
Joseph Priestley (siglo XVIII) quien descubrió la existencia de oxígeno, concluyó que las plantas verdes podían desprender O_2 , aunque sin relacionarlo con la absorción de luz.

Robert Mayer fue el primero en sugerir que la luz solar aporta la energía para la fotosíntesis



Engelmann (1880) descubrió que los cloroplastos son responsables del desprendimiento de O_2 (bacterias motiles en busca de O_2 migraban a zonas cercanas al cloroplasto de la superficie celular de un alga eucariota)

Organismos fotosintéticos que generan oxígeno: Los organismos vivos (excepto bacterias) utilizan agua como dador de electrones y de hidrógeno para reducir a varios aceptores electrónicos liberando O_2 en el proceso.



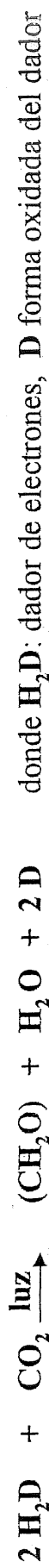
Organismos fotosintéticos que no generan oxígeno: Algunas bacterias fotosintéticas no utilizan agua como dador de electrones. Las bacterias verdes y purpúreas del azufre utilizan sulfuro de hidrógeno con ese fin.



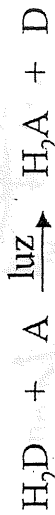
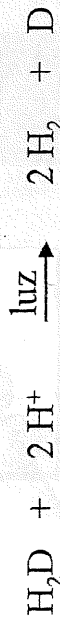
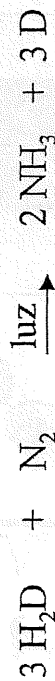
Algunas bacterias purpúreas no sulfuradas utilizan isopropanol



Todas las reacciones de fotosíntesis son semejantes



En organismos fotosintéticos fijadores de N, éste puede también ser aceptor de electrones reduciéndose a NH_3

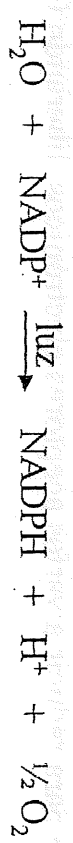


Reacción de Hill (1951)

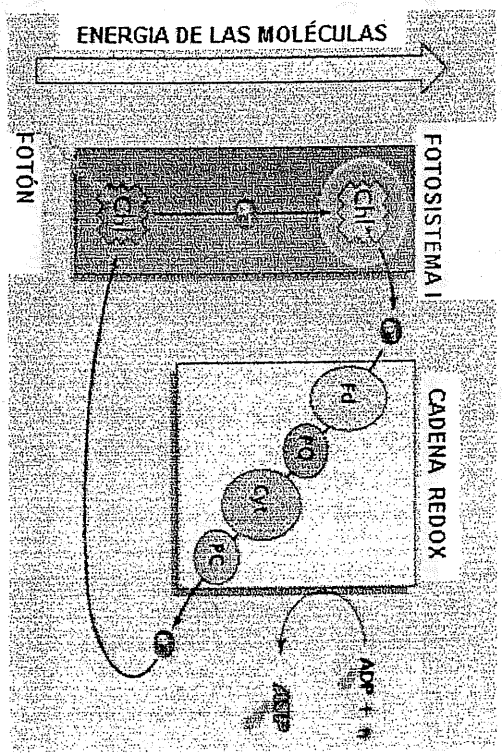
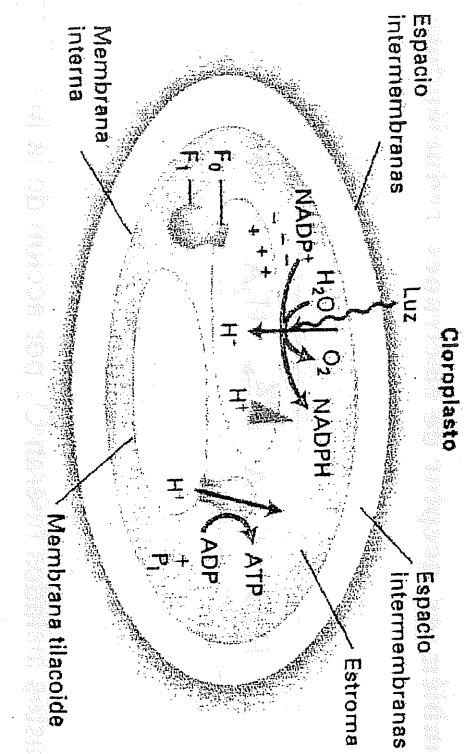
En presencia de un aceptor electrónico artificial (A), cloroplastos aislados liberan O_2 por acción de la luz. Este hecho indica que el CO_2 no interviene en la etapa luminosa, sino que se reduce a hexosa en una etapa posterior.



En el cloroplasto existe un aceptor electrónico, NADP^+ , que recibe los e^- reduciéndose a NADPH .



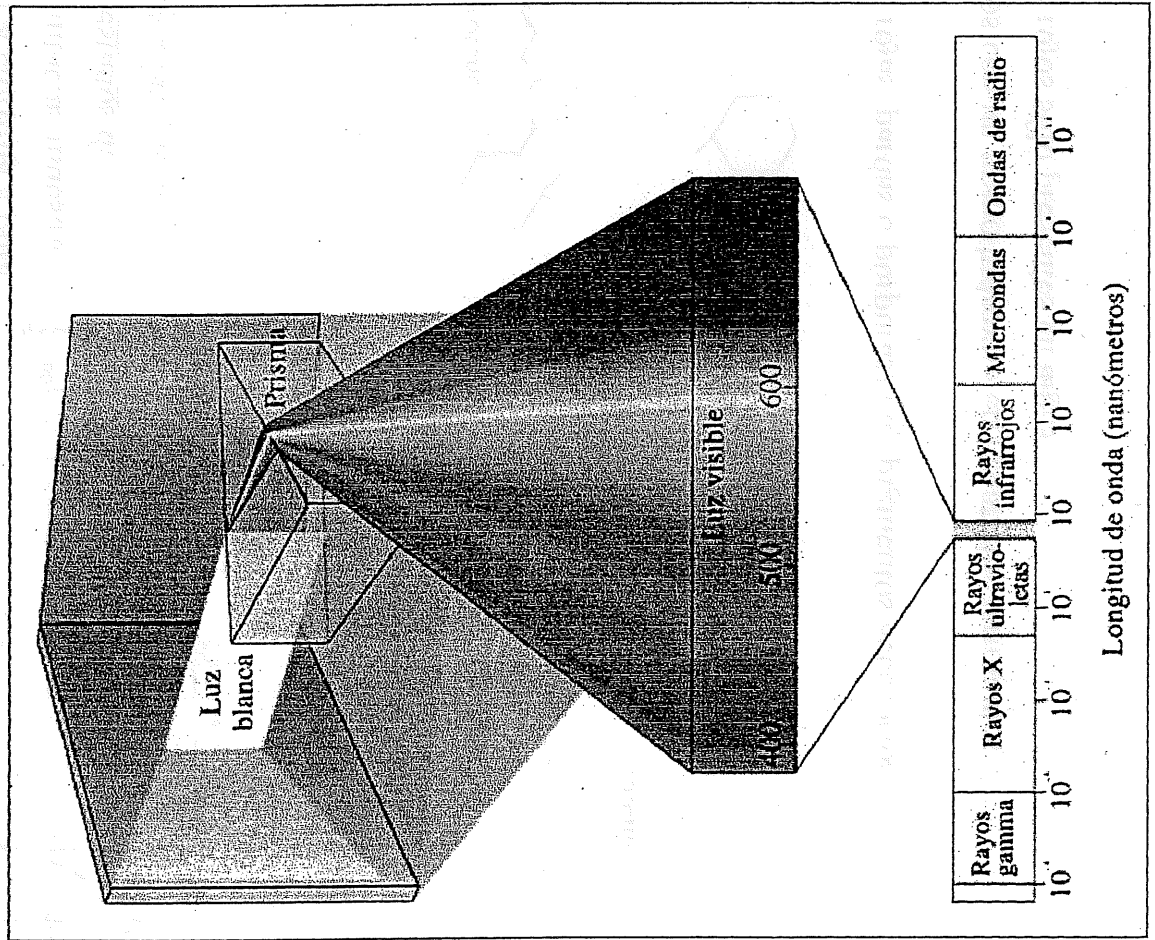
Durante este proceso hay una etapa en que los electrones se mueven hacia niveles más bajos de energía, generando un gradiente de protones (FPM), que será utilizado para la síntesis de ATP por acción de una ATPsintasa, un ejemplo de la teoría del acoplamiento quimiosmótico analizada la clase pasada. Así la formación de ATP acoplada al transporte electrónico fotoinducido, conocida como **fotofoforilación**, es un mecanismo para conservar la energía luminosa absorbida. Hace más de medio siglo, en 1954, se determinó que cloroplastos aislados expuestos a la luz en presencia de ADP y fosfato producen ATP.



Adaptado de Biología celular y Molecular, Lodish *et al.*

Etapa luminica

Naturaleza de la luz visible: es una forma de radiación electromagnética (longitud de onda 400 -700 nm.) que se propaga en forma corpuscular como cuantos o fotones.



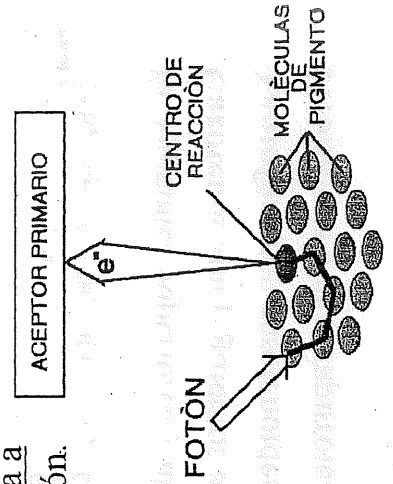
La capacidad de un compuesto para absorber fotones depende de su estructura química. El espectro de absorción de un compuesto indica su capacidad para absorber la luz en función de la longitud de onda.

Estado excitado: algunos electrones de un átomo o molécula pueden elevarse a niveles superiores de energía por absorción de la energía de un fotón.

Fotones de cierta longitud de onda (λ) pueden excitar un átomo o molécula debido a que la absorción de energía lumínica no ocurre en forma continua sino cuantizada. Una molécula excitada retorna a su estado inicial con emisión de energía, como luz (fluorescencia) o calor, o bien transmitiéndola a otra molécula.

Una molécula excitada también puede oxidarse, cediendo e^- a otra molécula (reacción fotoquímica)

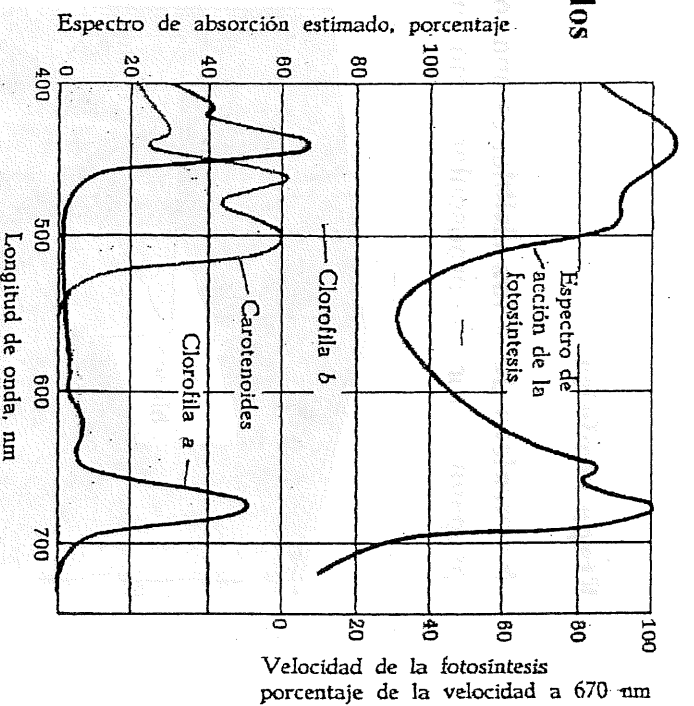
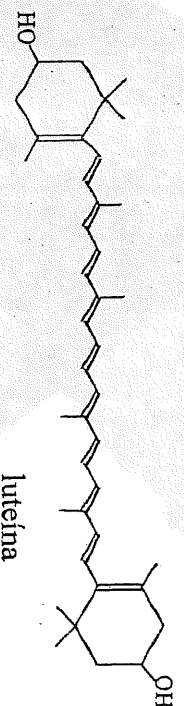
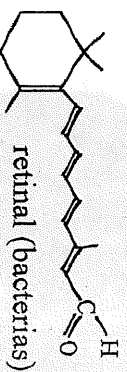
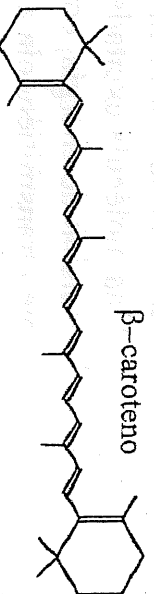
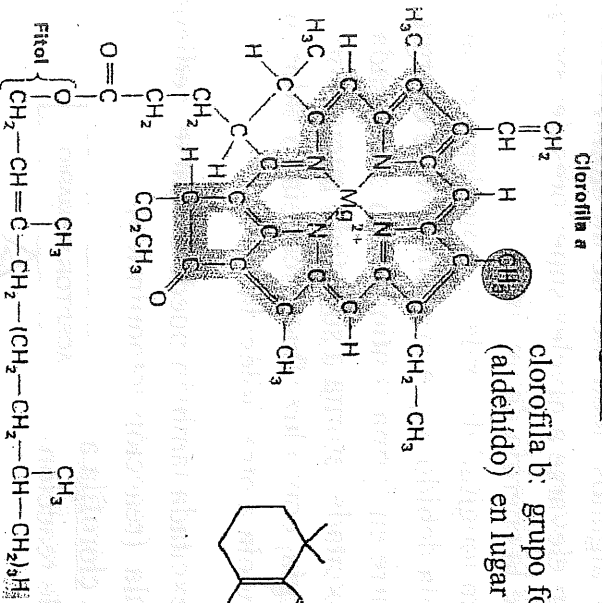
Es el caso de la clorofila a de los centros de reacción.



Pigmentos fotosintéticos

Estructura química: Los pigmentos fotosintéticos poseen **sistemas extendidos de dobles enlaces conjugados** que los habilitan para absorber luz visible.

Clorofilas (verdes) absorben en la zona visible. Clorofila a y b en plantas superiores. Clorofila a y c en algas pardas y diatomeas. La clorofila a pura tiene máximos de absorción a 663 y 420 nm. En células intactas muestra máximos a 660, 670, 678, 685 nm, debido a diferentes estados de agregación de la molécula de clorofila a con las proteínas a las que se asocia en la célula vegetal.



En vegetales superiores y algas fotosintéticas (verdes, rojas, pardas o púrpuras) hay pigmentos accesorios:

Carotenos son pigmentos amarillos, rojos o púrpuras.

Xantofilas son carotenoides semejantes a los carotenos con un grupo hidroxilo en los anillos terminales.

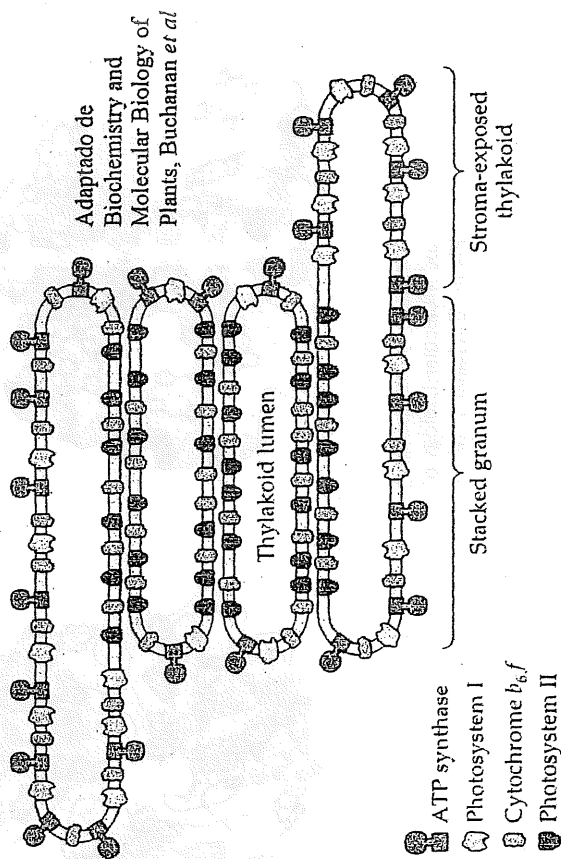
Ficobilinas son tetrapiroles lineales sin Mg, azules o rojos sólo presentes en algas.

Fotosistemas: En la membrana tilacoide de vegetales superiores existen dos fotosistemas, en los que se agrupan los pigmentos fotosintéticos. En los fotosistemas PSI y PSII donde ocurren simultáneamente dos conjuntos de reacciones luminosas para alcanzar la máxima eficiencia fotosintética. En células fotosintéticas ambos interactúan para producir velocidades elevadas de desprendimiento de oxígeno.

La membrana tilacoide se ubica dentro del cloroplasto en dos arreglos diferentes: formando discos apilados (grana), o bien como zonas de mayor contacto con el estroma.

Los fotosistemas se distribuyen de una manera tal que PSI se ubica preferentemente en la zona en contacto con el estroma, mientras PSII abunda en la zona de la grana.

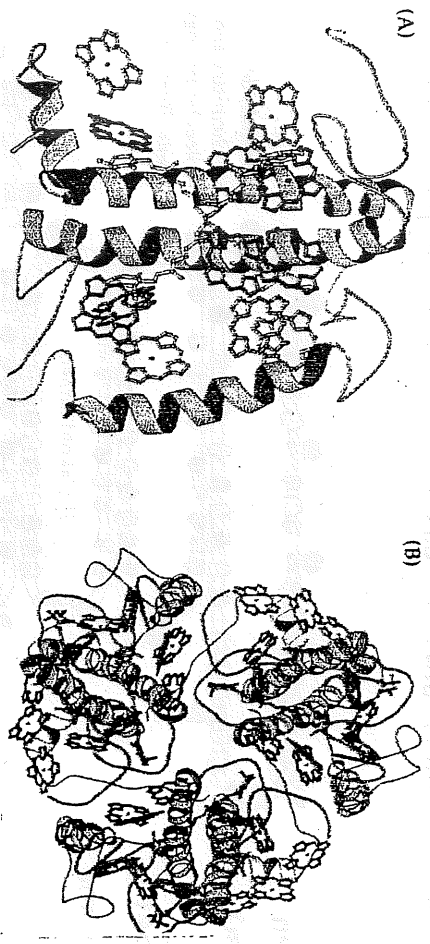
Los fotosistemas están formados por un **centro de reacción** fotoquímica, que incluye moléculas transportadoras de e^- , y un **complejo antena** o **centro cosechador de energía (Lhc)** que incluye distintas asociaciones proteína-pigmento.



Fotosistema I (PSI): Contiene en total alrededor de 200 moléculas de clorofila a, 50 de clorofila b, 50 - 200 moléculas de pigmentos carotenoides y un centro de reacción P_{700} . El centro de reacción toma ese nombre porque existe una disminución de absorbancia a esa λ (700nm) cuando esa molécula de clorofila a es oxidada por acción de la luz. Las bacterias fotosintéticas que poseen un solo fotosistema (semejante al I) no desprenden oxígeno, PSI surgió primero en la evolución, la capacidad de utilizar agua como reductor se desarrolló más tarde junto con el PSII.

Fotosistema II (PSII): Es responsable del desprendimiento de oxígeno. Contiene los mismos pigmentos antena además del centro de reacción P_{680} .

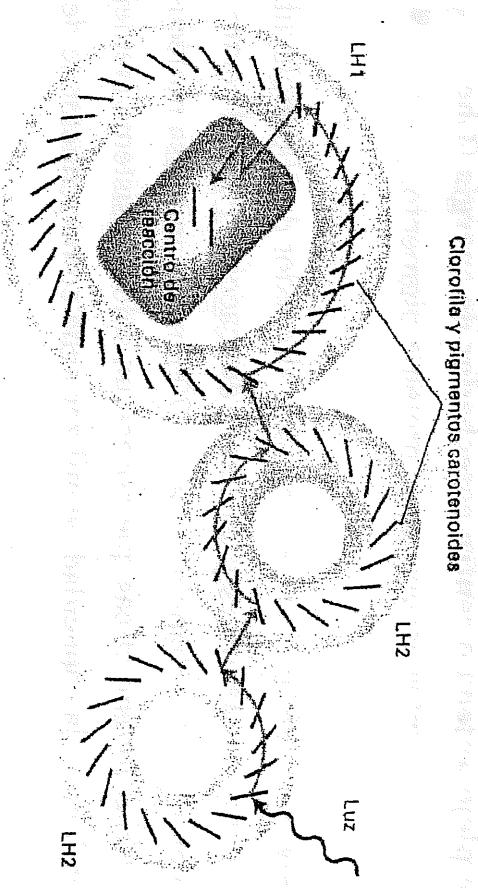
Centros cosechadores de energía (Lhc)



Adaptado de Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Buchanan *et al*

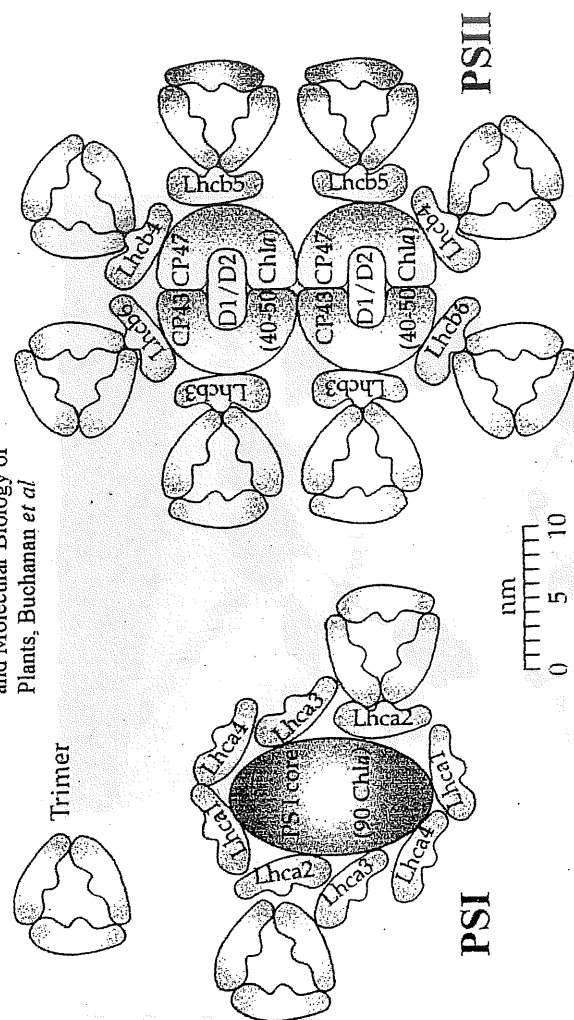
La proteína fijadora de pigmentos más común la membrana tilacoide es LhcII (o Lhc₂), y representa cerca de la mitad del contenido proteico de esa membrana. Las tres hélices transmembrana de LhcII fijan una docena de moléculas de clorofilas a y b además de dos moléculas de carotenos (A). Los complejos proteicos Lhc están en general organizados como trímeros (B), y se ubican rodeando el centro de reacción del fotosistema.

-La transferencia de energía de un pigmento a otro, por un mecanismo de resonancia denominado Förster sólo es posible debido la proximidad entre los pigmentos involucrados, cuya orientación debe ser la adecuada y cuyos espectros de absorción deben superponerse para que el proceso sea eficiente.



Adaptado de Biología celular y Molecular, Lodish *et al*.

Adaptado de Biochemistry
and Molecular Biology of
Plants, Buchanan *et al*



En PSI, una estructura central que incluye el centro de reacción P_{700} además de alrededor de 90 moléculas de clorofila a, está rodeada por complejos Lhc con sitios fijadores para ambas clorofilas (a y b). En PSII, la estructura central formada por proteínas fijadoras de clorofila a, CP43 y CP47, fuertemente asociadas al complejo proteico D1/D2 del centro de reacción, está rodeada por complejos Lhc.

La fosforilación de Lhc parece regular la distribución equilibrada la energía absorbida entre ambos PS, la carga negativa resultante de ella promueve una disminución en el apilamiento de los discos por repulsión electrostática y una migración de los Lhc negativamente cargados a las zonas de la membrana abundantes en PSI, activándolos.

Centros de reacción

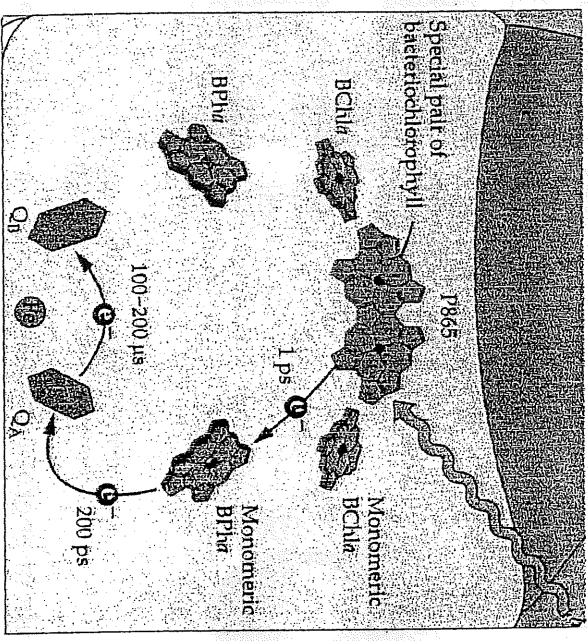
Además de un centro cosechador de energía, cada fotosistema incluye un centro de reacción :

P_{700} en PSI, que contiene clorofila a asociada a un tipo específico de proteína

P_{680} en PSII que contiene clorofila a asociada a una proteína diferente.

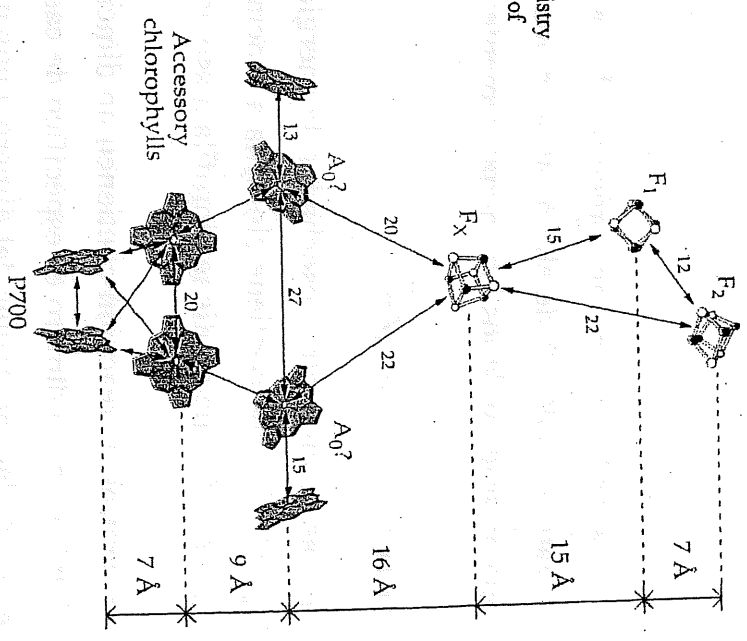
Los centros de reacción contienen un dímero de moléculas de clorofila especiales, además de aceptores electrónicos. El dímero es específico de cada centro de reacción. Durante la etapa luminica un e^- es transferido de una de las moléculas del dímero a una molécula de feofitina (derivado de clorofila sin Mg), o bien a otra molécula de clorofila, luego a moléculas que no son pigmentos, como quinonas o complejos Fe-S.

Modelos de centros de reacción bacterianos



Por acción de la luz un electrón es transferido desde una bacterioclorofila (BChl_a) del dímero, a una clorofila a monomérica, luego a una bacteriofeofitina (BPh_a) y finalmente a en forma secuencial a dos quinonas Q_A y Q_B

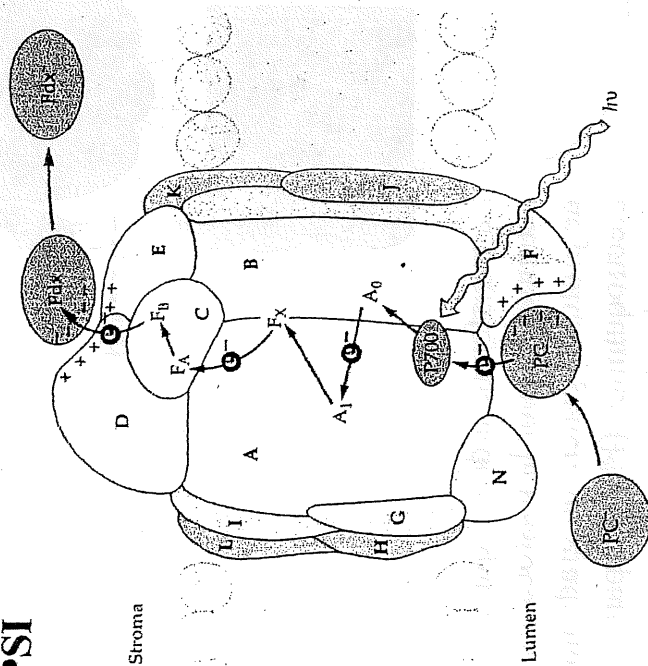
Adaptados de Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Buchanan *et al*



Transportadores de e⁻ en el centro de reacción de PSI de una cianobacteria. Desde el dímero de P₇₀₀ salen dos brazos simétricos que incluyen una molécula accesoria de clorofila a y una monomérica (A₀). En un plano central sigue el complejo proteico Fe-S (F_x), seguido por otros dos complejos Fe-S transportadores de e⁻ (F₁ y F₂)

Modelos actuales de los centros de reacción

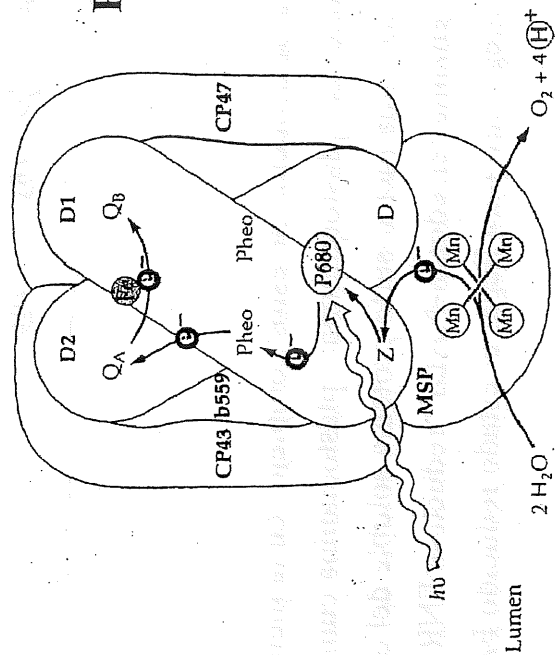
PSI



El centro de reacción de **PSI** contiene complejos proteicos Fe-S como aceptores fijos de e^- . Los e^- son transferidos desde el P_{700} a una molécula de clorofila A_0 , luego a una filoquinona A_1 y de ella a centros Fe-S (F_X , F_A y F_B). Finalmente a la hierro-sulfo proteína soluble ferredoxina (Fdx). P_{700}^+ recibe un electrón que la plastocianina reducida trae desde PSII. Algunas subunidades proteicas de PSI como F, D y E presentan sitios fijadores para los sustratos transportadores de electrones.

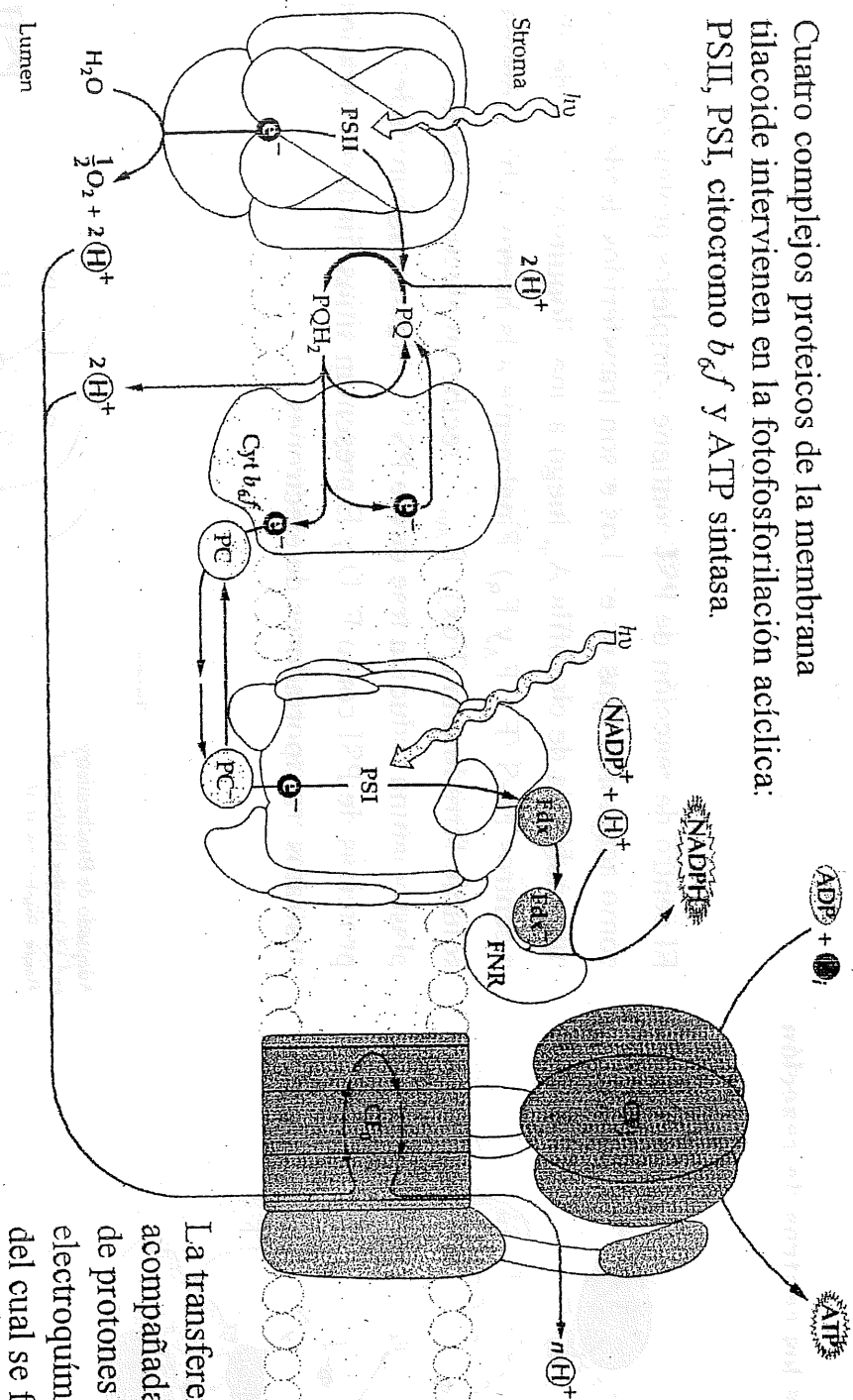
Adaptado de Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Buchanan *et al*

PSII



El centro de reacción de **PSII** contiene transportadores de e^- fijados por una estructura proteica con dos brazos (D1 y D2). En presencia de luz los electrones son transferidos desde P_{680} a la feofitina (Pheo), luego sucesivamente a dos plastoquinonas Q_A y Q_B . P_{680}^+ es reducido por Z, un residuo tirosina en la subunidad D1. Un agregado proteico que contiene Mn es responsable de la oxidación del agua. CP43 y CP47 son proteínas fijadoras de clorofila.

Cuatro complejos proteicos de la membrana tilacoide intervienen en la fotosíntesis acíclica: PSII, PSI, citocromo *b₆f* y ATP sintasa.



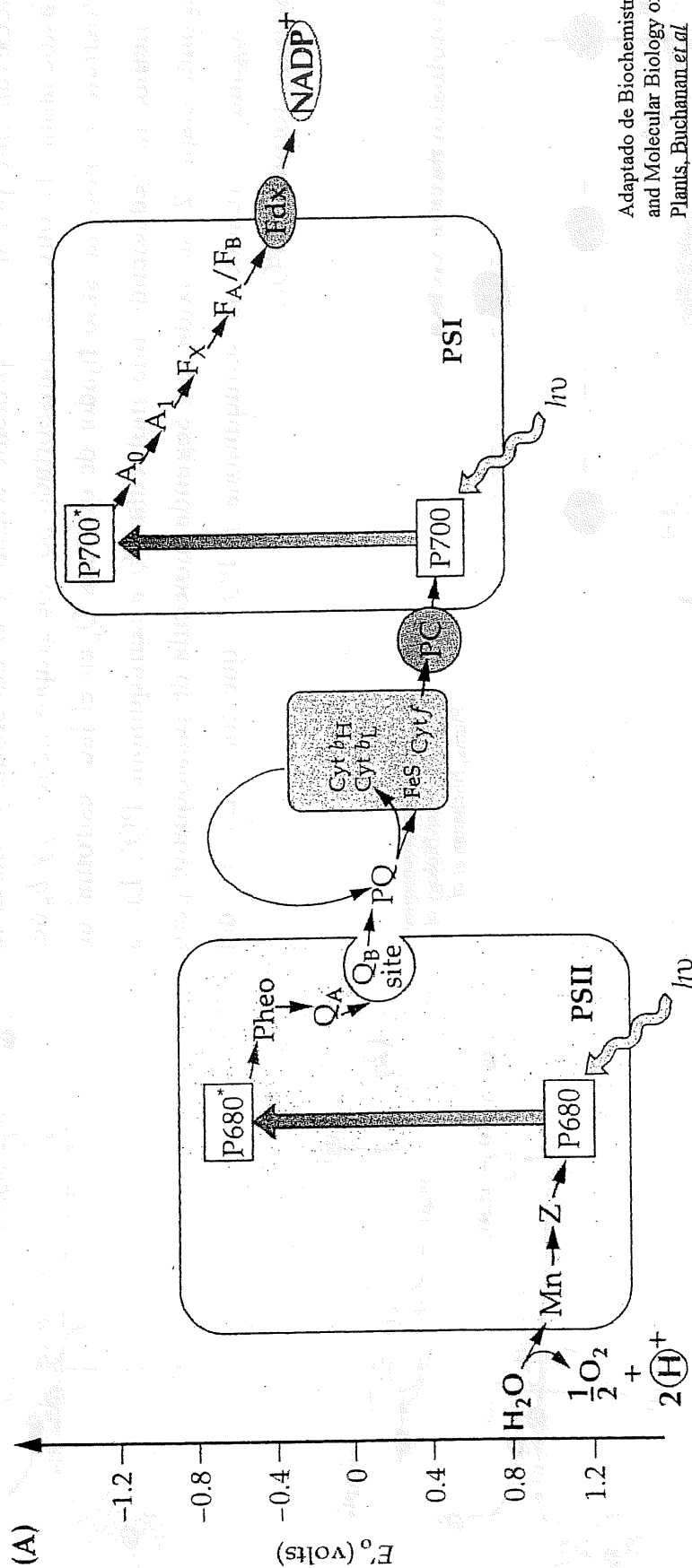
Adaptado de Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Buchanan *et al*

La transferencia de e^- , que es acompañada por la traslocación de protones genera un gradiente electroquímico (FPM) a partir del cual se forma ATP.

La distribución de estos complejos en la membrana tilacoide sugiere la existencia de transportadores de e^- que los conecten, plastoquinona y plastocianina cumplen ese rol. El aceptor electrónico a la salida de PSI es ferredoxina (Fdx), una hierro-sulfo proteína soluble del estroma, que transfiere finalmente el electrón al NADP⁺ con la ayuda de la enzima ferredoxin-NADP⁺ reductasa FNR, cuya coenzima FAD recibe un e^- para pasar a una forma semiquinona y luego otro para llegar al estado reducido FADH₂. FNR transfiere esos dos e^- al NADP⁺ reduciéndolo a NADPH.

Fotofosforilación acíclica

En este proceso la energía lumínica absorbida permite fluir los electrones **en contra** del gradiente normal de potenciales estándar de óxido-reducción (E_0), es decir desde el agua hasta el NADP^+ .

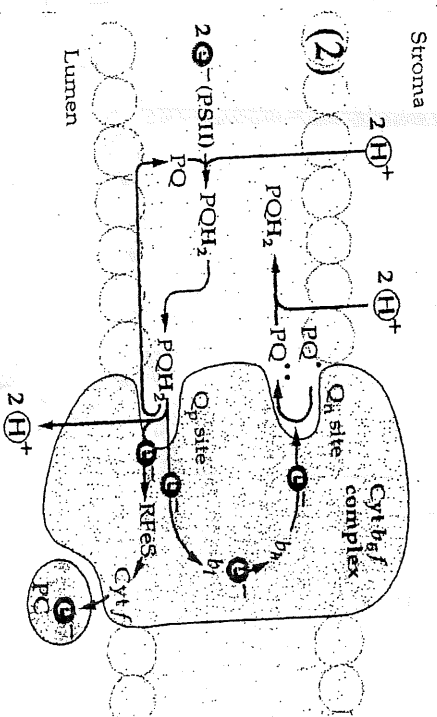


Adaptado de Biochemistry
and Molecular Biology of
Plants, Buchanan *et al*

En el esquema anterior, conocido como "esquema Z", correspondiente a la **fotofosforilación acíclica**, se observa la cooperación de ambos fotosistemas en este proceso. Se indican los valores de los potenciales de reducción estándar de los transportadores de electrones. Los electrones que reducen el NADP^+ son proporcionados por el agua. Se puede observar que los electrones son transferidos desde un transportador con mayor valor de E_0 a otro con menor valor, sólo en el segmento desde P_{680} hasta P_{700} , con la consiguiente traslocación de protones que origina la síntesis de ATP.

百

Adaptados de Biochemistry
and Molecular Biology of
Plants, Buchanan *et al*



En la membrana tilacoides puede ocurrir, por acción de la luz, una forma de transporte cíclico de e^- . Este mecanismo parece estar relacionado con la necesidad de ATP para fijar CO_2 . Se cree que Fdx actúa como cofactor de Fdx-PQ óxidoreductasa, una enzima cuya estructura no ha sido determinada aún, que le permite transferir e^- a PQ.

Bibliografía

- Química Orgánica. Seyhan Ege, Editorial Reverté, 1998.
- Biomoléculas. Estructura y rol metabólico. S. R. Leicach, 2004.
- Biochemistry and Molecular Biology of Plants. B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones, 2000. Ed. Amer. Soc. of Plant Biology-USA.
- Biología Celular y Molecular. H. Lodish, A. Berk, S.L. Zipursky, P. Matsudaira, D. Baltimore, J. Darnell. Editorial Panamericana, 2002.
- Principios de Bioquímica. A. Lehninger, D. Nelson y M. Cox; Editorial Omega S.A., 1995.
- Bioquímica. Stryer, L., Editorial Reverté, 1990.

